

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CAPRINOS COM SÊMEN RESFRIADO

AMANDA PIMENTA SIQUEIRA

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2006

AMANDA PIMENTA SIQUEIRA

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CAPRINOS COM SÊMEN RESFRIADO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Reprodução Animal

Orientador: Prof. Dr. José Monteiro da Silva Filho

Co-orientadores: Dr. Jeferson Ferreira da Fonseca
Dr. José Henrique Bruschi

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2006

S618i Siqueira, Amanda Pimenta, 1980-

Inseminação artificial em caprinos com sêmen resfriado / Amanda Pimenta Siqueira.

2006. 106 p. : il.

Orientador: José Monteiro da Silva Filho

Co-orientadores: Jeferson Ferreira da Fonseca

José Henrique Bruschi

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais,
Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

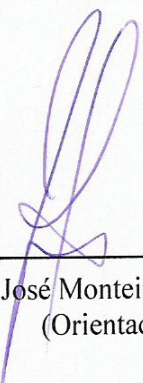
1. Caprino – Reprodução – Teses. 2. Caprino – Inseminação
artificial – Teses.

3. Sêmen – Resfriamento – Teses. I. Silva Filho, José Monteiro da.
II. Fonseca, Jeferson Ferreira da. III. Bruschi, José Henrique. IV. Universidade
Federal de Minas Gerais.

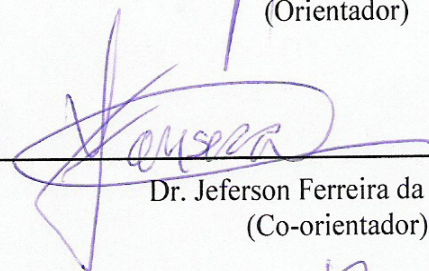
Escola de Veterinária. V. Título.

CDD – 636.390 26

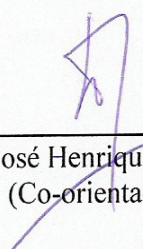
Dissertação defendida em 17 de fevereiro de 2006 perante a Comissão Examinadora constituída por:



Prof. Dr. José Monteiro da Silva Filho
(Orientador)



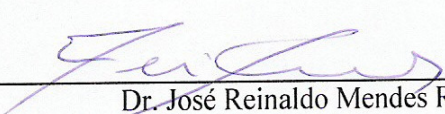
Dr. Jeferson Ferreira da Fonseca
(Co-orientador)



Dr. José Henrique Bruschi
(Co-orientador)



Prof. Dr. Alan Maia Borges



Dr. José Reinaldo Mendes Ruas

*A minha família,
base da minha vida*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Minas Gerais e à Escola de Veterinária, pela oportunidade de realização do curso;

À Fapemig, pela concessão da bolsa de estudos e financiamento do projeto (CAG nº 1243/05);

Aos meus pais, por todo amor, incentivo e apoio;

Às minhas irmãs, Ana Carolina e Aline, por estarem sempre presentes, me apoiando e incentivando;

Aos meus avós e demais familiares, pelo carinho, por compreenderem minha ausência e por estarem sempre ao meu lado;

Ao Gui, companheiro em todos os momentos, por todo apoio, amor, carinho e paciência;

Ao Professor José Monteiro da Silva Filho, exemplo de pessoa e professor, pela orientação, amizade, conselhos e ensinamentos constantes;

Ao Dr. Jeferson Ferreira da Fonseca, pela co-orientação, sugestões, participação ativa e idealização deste estudo;

Ao Dr. José Henrique Bruschi, pela co-orientação e por ter aberto a porta e me aceitado em sua propriedade com total confiança e amizade;

Ao Professor Alan Maia Borges e ao pesquisador José Reinaldo Mendes Ruas, membros da banca examinadora, pelas importantes contribuições e sugestões apresentadas;

À professora Maristela Silveira Palhares, pela disponibilidade e grande ajuda na execução das análises estatísticas;

A Dra. Marlene Bruschi e Dr. José Henrique Bruschi por terem permitido a utilização dos animais de sua propriedade;

Ao pesquisador João Henrique Moreira Viana pelo auxílio nas ultra-sonografias;

A Embrapa Gado de Leite por disponibilizar seus equipamentos e funcionários;

Aos funcionários da Granja Água Limpa, em especial a Silene, Rubinho, Seu Joaquim, Gilson e família, pelo acolhimento, ajuda indispensável e amizade construída ao longo dos quatro meses da fase experimental desse estudo;

Aos funcionários do laboratório de Reprodução Animal da Embrapa Gado de Leite, em especial ao Déo pela grande ajuda, amizade, e pelos momentos agradáveis de convivência;

A estagiária e amiga Melissa Prospero Peixoto pela sua serenidade, grande amizade e ajuda indispensável na fase experimental;

As colegas Janaína Januário e Josiane Volpato pelos agradáveis momentos de convivência;

Aos colegas de orientação Bruno, Ivis, Fátima, Felipe e Raíssa, pela convivência e ajuda durante o curso;

As grandes amigas, Aline, Ana Luiza, Ana Paula, Renata Pataro e Renata Freitas;

Aos funcionários do Laboratório de Reprodução Animal Dário Dias e Márcia, pela ajuda e disponibilidade;

As secretárias do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Lourdes, Rosângela e Eliana, pela paciência no atendimento;

A equipe do Colegiado de Pós-Graduação: Profa. Lygia, Prof. Helton, Nilda, Heloísa e Eliane, pela prestabilidade.

SUMÁRIO

RESUMO	15
ABSTRACT	16
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1.Fisiologia da reprodução da fêmea caprina	18
2.1.1.Sazonalidade reprodutiva.	18
2.1.2.Dinâmica folicular	19
2.1.3.Corpo lúteo	21
2.1.3.1.Formação, estrutura e função	21
2.1.3.2.Manutenção do corpo lúteo	22
2.1.3.3.Regressão do corpo lúteo.....	23
2.1.3.4.Insuficiência do corpo lúteo	24
2.1.4.Duração do ciclo estral	26
2.1.5.Estro	27
2.1.5.1.Características comportamentais	27
2.1.5.2.Período de manifestação.....	28
2.1.5.3.Duração do estro.....	29
2.1.5.3.1.Influência do efeito macho e do efeito fêmea sobre a duração do estro.....	29
2.1.5.3.2.Influência do efeito pênis sobre a duração do estro.....	30
2.2.Momento da inseminação artificial	30
2.2.1.Longevidade dos gamentas.....	31
2.2.2.Momento da ovulação	31
2.2.3.Relação entre duração do estro e momento da inseminação artificial.....	31
2.2.4.Relação entre as características do muco e o momento da inseminação artificial.	33
2.3.Tratamentos hormonais para indução e sincronização do estro	33
2.3.1.Progestágenos	33
2.3.2.Prostaglandinas.....	35
2.4.Preservação e tipo de sêmen utilizado na inseminação artificial de caprinos	37
2.5.Fatores a serem considerados no processo de inseminação artificial de caprinos e capazes de influenciar a fertilidade	39
2.5.1.Fatores inerentes ao reprodutor e ao sêmen.....	39
2.5.1.1.Influência da estação do ano.....	39
2.5.1.2.Produção espermática.....	39
2.5.1.3.Efeito do tipo de coleta do sêmen.....	40
2.5.1.4.Bioquímica do sêmen caprino	41
2.5.1.5.Influência do plasma seminal e da centrifugação do sêmen.....	42
2.5.1.6.Diluidores do sêmen	43
2.5.1.7.Taxa de diluição, concentração espermática e volume da dose inseminante	45
2.5.1.8.Alterações espermáticas causadas pelo resfriamento	48
2.5.1.9.Efeito do tempo de armazenamento do sêmen sobre as características espermáticas e fertilidade	48
2.5.2.Fatores inerentes às fêmeas	49
2.5.2.1.Efeito do local de deposição do sêmen sobre a fertilidade de cabras inseminadas ...	49

2.5.2.2.Efeito do número de inseminações artificiais sobre a fertilidade de cabras inseminadas.....	51
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	52
3.1.Localização geográfica, condições climáticas e período experimental.....	52
3.2.Animais experimentais.....	53
3.2.1.Reprodutores	53
3.2.2.Fêmeas	53
3.3.Manejo e alimentação dos animais	53
3.4.Grupos experimentais	54
3.5.Coleta e avaliação do sêmen	55
3.6.Diluição e resfriamento do sêmen.....	56
3.7.Indução, sincronização e monitoramento do estro.....	56
3.8.Inseminação artificial.....	57
3.9.Diagnóstico de gestação.....	58
3.10.Análises estatísticas.....	58
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
4.1.Comportamento sexual, características físicas do sêmen e desempenho reprodutivo dos bodes.....	58
4.2.Parâmetros reprodutivos e fertilidade das cabras inseminadas	62
4.2.1.Fertilidade das cabras inseminadas	63
4.2.2.Parâmetros reprodutivos das cabras inseminadas	65
4.3.Efeito da categoria reprodutiva sobre a fertilidade das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas.....	67
4.4.Efeito do local de deposição do sêmen no trato genital feminino sobre a fertilidade das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas	68
4.5.Influência do tipo de muco observado durante a inseminação sobre a fertilidade das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas.....	70
4.6.Características dos cios naturais e induzidos pela PGF2 α em cabras da raça Toggenburg	72
4.7.Características dos cios naturais e induzidos, inseminados ou não.....	75
5. CONCLUSÕES	78
6. PROPOSTAS PARA O FUTURO.....	78
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
8. ANEXOS.....	92

LISTA DE TABELAS E QUADRO

Tabela 1	Fertilidade de cabras inseminadas uma única vez, a diferentes períodos de tempo em relação ao início do estro natural.....	32
Tabela 2	Volume de sêmen (ml) e número mínimo recomendado de espermatozoides (milhões) por dose inseminante em função do local de deposição e do tipo de sêmen utilizado (método de conservação).....	46
Tabela 3	Dose inseminante e taxa de concepção de cabras inseminadas artificialmente, em estro natural.....	47
Tabela 4	Dados meteorológicos médios do período experimental.....	53
Tabela 5	Efeito do tempo de armazenamento do sêmen e do reprodutor sobre a taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C.....	54
Tabela 6	Efeito do reprodutor sobre a taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C	55
Quadro 1	Cronograma adotado para a sincronização do estro e coleta do sêmen.....	55
Tabela 7	Composição do diluidor Tris-frutose-gema de ovo utilizado no experimento.....	56
Tabela 8	Códigos utilizados para registrar as ações associadas ao comportamento sexual das cabras.....	57
Tabela 9	Comportamento sexual, características físicas do sêmen e desempenho reprodutivo dos bodes durante o período experimental	61
Tabela 10	Características físicas do sêmen diluído com 0, 12 ou 24 horas de armazenamento a 5°C.....	61
Tabela 11	Parâmetros reprodutivos e taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas, em meio diluidor a base de gema de ovo	63
Tabela 12	Intervalo médio do tratamento ao início do estro e sua duração, em horas, após a aplicação de duas doses de prostaglandina, intervaladas de 10 dias	65
Tabela 13	Distribuição das fêmeas por categoria reprodutiva, por reprodutor e por tratamento.....	67
Tabela 14	Efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de concepção das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado (considerando-se todas as cabras).....	67
Tabela 15	Efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de concepção das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado.....	67
Tabela 16	Distribuição dos locais de deposição do sêmen no trato genital feminino por tratamento	68
Tabela 17	Distribuição do tipo de muco observado durante a inseminação entre os tratamentos.....	70
Tabela 18	Efeito do tipo de muco observado durante a inseminação sobre a taxa de concepção das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas (considerando-se todas as cabras)	70
Tabela 19	Efeito do tipo de muco observado durante a inseminação sobre a taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas (por tipo de muco)	71
Tabela 20	Características dos cios naturais e induzidos pela PGF _{2α} em cabras da raça Toggenburg	72
Tabela 21	Características dos cios naturais e induzidos, inseminados ou não.....	76

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICO		
Figura 1	Higienização da vulva	59
Figura 2	Introdução do espéculo, devidamente lubrificado, na vulva	59
Figura 3	Introdução do espéculo	59
Figura 4	Abertura do espéculo.....	59
Figura 5	Visualização da cérvix	59
Figura 6	Pinçamento da cérvix	59
Figura 7	Introdução do aplicador.....	59
Gráfico 1	Efeito do tipo de muco observado durante a inseminação artificial sobre a taxa de concepção das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas.....	71

LISTA DE ANEXOS		
Anexo A	Análises estatísticas das Tabelas 05 e 06	92
Análise 1	Comparação da taxa de prenhez entre reprodutores.....	92
Análise 2	Comparação da taxa de prenhez entre tratamentos, para o bode 1.....	92
Análise 3	Comparação da taxa de prenhez entre tratamentos, para o bode 2.....	92
Anexo B	Ficha para avaliação do sêmen dos bodes e controle das cabras inseminadas por coleta.....	93
Anexo C	Ficha de controle reprodutivo individual das cabras	94
Anexo D	Dados referentes às cabras que foram inseminadas duas vezes.....	95
Tabela 22	Parâmetros reprodutivos, referentes à primeira inseminação, das cabras inseminadas duas vezes durante o período experimental.....	95
Anexo E	Dados referentes ao comportamento sexual, avaliação física do sêmen com 0, 12 e 24 horas de resfriamento a 5°C e desempenho reprodutivo dos bodes durante o período pré-experimental.....	95
Tabela 23	Comportamento sexual, características físicas do sêmen e desempenho reprodutivo dos bodes durante o período pré-experimental (março/2005).....	95
Tabela 24	Características físicas do sêmen após 12 ou 24 horas de armazenamento a 5°C, durante o período pré-experimental (março/2005).....	96
Anexo F	Análises estatísticas das Tabelas 09 e 10	96
Análise 4	Comparação do vigor espermático nos tempos 0, 12 e 24 horas de resfriamento do sêmen a 5°C.....	96
Análise 5	Comparação da motilidade espermática nos tempos 0, 12 e 24 horas de resfriamento do sêmen a 5°C.....	96
Análise 6	Comparação da motilidade espermática nos tempos 0, 12 e 24 horas de resfriamento do sêmen a 5°C (dados transformados em arco seno \sqrt{x}).....	96
Análise 7	Comparação do número de espermatozoides/ejaculado entre reprodutores	97
Análise 8	Comparação do número de espermatozoides móveis/ejaculado entre reprodutores	97
Análise 9	Comparação do número de doses/ejaculado entre reprodutores	97
Análise 10	Comparação do número de cabras inseminadas, entre reprodutores.....	97
Análise 11	Comparação da motilidade espermática, entre reprodutores.....	98
Análise 12	Comparação da motilidade espermática, entre reprodutores (dados transformados em arco seno \sqrt{x}).....	98
Análise 13	Comparação do vigor espermático, entre reprodutores.....	98

Análise 14	Comparação do número de espermatozóides/ml, entre reprodutores.....	98
Análise 15	Comparação do número de espermatozóides móveis/ml, entre reprodutores	99
Análise 16	Comparação do turbilhonamento espermático, entre reprodutores.....	99
Análise 17	Comparação da duração da ejaculação, entre reprodutores	99
Análise 18	Comparação do tempo para a monta, entre reprodutores	99
Análise 19	Comparação do tempo de reação, entre reprodutores	100
Análise 20	Comparação do volume seminal, entre reprodutores	100
Anexo G	Análises estatísticas da Tabela 11	100
Análise 21	Comparação da idade, em meses, das cabras por tratamento.....	100
Análise 22	Comparação do escore corporal (1-5) das cabras, por tratamento	100
Análise 23	Comparação do peso (em kg) das cabras, por tratamento.....	100
Análise 24	Comparação do intervalo da aplicação da segunda dose de PGF2 α ao início do cio, por tratamento	100
Análise 25	Comparação da duração do cio, em horas, após a aplicação da segunda dose de PGF2 α , por tratamento	100
Análise 26	Comparação do tempo de coleta à inseminação, em horas, por tratamento.....	101
Análise 27	Comparação do intervalo do início do cio à inseminação, em horas, por tratamento.....	101
Análise 28	Comparação da duração da inseminação, em segundos, por tratamento ...	101
Análise 29	Comparação do intervalo da inseminação ao término do cio, em horas, por tratamento	101
Análise 30	Comparação da taxa de concepção entre os tratamentos	101
Análise 31	Comparação do tempo de retorno ao cio, em dias, por tratamento	101
Anexo H	Análises estatísticas da Tabela 12	101
Análise 32	Comparação do intervalo da primeira e segunda aplicações de PGF2 α ao início do cio, em horas	101
Análise 33	Comparação da duração do estro, em horas, após a primeira (cios induzidos não inseminados) e segunda (cios induzidos inseminados) aplicações de PGF2 α	101
Análise 34	Porcentagem de manifestação de cio, após a primeira e segunda aplicações de PGF2 α	102
Anexo I	Análises estatísticas das Tabelas 13, 14 e 15	102
Análise 35	Freqüência de distribuição das fêmeas por categoria reprodutiva, por reprodutor e por tratamento.....	102
Análise 36	Comparação da taxa de prenhez entre as categorias 1 (cabritas), 2 (secas) e 3 (lactantes)	102
Anexo J	Dados referentes ao efeito da categoria reprodutiva (dados agrupados) sobre a taxa de fertilidade das cabras inseminadas, com suas respectivas análises estatísticas.....	102
Análise 37	Efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de fertilidade das cabras	102
Análise 38	Comparação da taxa de prenhez entre as categorias 1 (cabritas + seca + desconhecida) e 2 (lactante)	102
Anexo K	Análises estatísticas da Tabela 16	103
Análise 39	Freqüência de distribuição dos locais de deposição do sêmen no trato genital da fêmea, durante a IA, por tratamento	103
Anexo L	Análises estatísticas das Tabelas 17, 18 e 19	103

Análise 40	Frequência de distribuição do tipo de muco observado durante a IA, entre tratamentos	103
Análise 41	Comparação entre as taxas de prenhez dos diversos tipos de muco observados durante a inseminação	103
Análise 42	Comparação entre as taxas de prenhez dos tipos de muco cristalino e estriado	103
Análise 43	Comparação entre as taxas de prenhez dos tipos de muco cristalino e caseoso	104
Análise 44	Comparação entre as taxas de prenhez dos tipos de muco estriado e caseoso	104
Anexo M	Análises estatísticas da Tabela 20	104
Análise 45	Comparação da duração do cio, em horas, entre os cios naturais e induzidos	104
Análise 46	Comparação do intervalo de cios, em dias, entre os cios naturais e induzidos	104
Análise 47	Comparação da manifestação do cio, ao longo do dia, entre os cios naturais e induzidos	104
Análise 48	Comparação da distribuição por classe de intervalo entre cios, entre os cios naturais e induzidos.....	105
Anexo N	Análises estatísticas das Tabelas 12 e 21.....	105
Análise 49	Comparação do intervalo da aplicação de PGF2 α ao início do cio, em horas, entre os cios induzidos, inseminados ou não	105
Análise 50	Comparação do intervalo entre cios, em dias, entre os cios naturais e induzidos inseminados	105
Análise 51	Comparação da duração do cio, entre os cios induzidos, inseminados e não inseminados, e naturais.....	105
Análise 52	Comparação do período de manifestação do cio, entre os cios induzidos, inseminados e não inseminados, e naturais.....	105
Análise 53	Comparação da distribuição por classe do intervalo entre cios, entre os cios induzidos, inseminados e não inseminados, e naturais	106
Tabela 25	Comparação do intervalo da aplicação da PGF2 α ao início do cio e de sua duração, entre a primeira e segunda aplicações de PGF2 α	106

RESUMO

Realizou-se o presente experimento na Granja Água Limpa, município de Piau – MG, durante o período de Março a Junho de 2005, representando a estação fisiológica de reprodução da espécie caprina nesta região. Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade fecundante do sêmen caprino resfriado a 5°C, por 12 (TI) ou 24 horas (TII), após a diluição em extensor à base de gema de ovo. Para tanto, utilizaram-se 62 fêmeas da raça Toggenburg (11 cabritas, 28 secas, 14 em lactação e 2 de categoria desconhecida), distribuídas uniformemente em dois tratamentos, como mencionado anteriormente. Como doadores de sêmen foram utilizados dois machos pertencentes à mesma raça. Após a coleta, o sêmen foi diluído em Tris-frutose-gema de ovo a 2,5%, envasado em palhetas de 0,25 ml, com 150 milhões de espermatozoides móveis e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas. As fêmeas receberam duas doses de 22,5 µg de prostaglandina F2α, intervaladas de 10 dias para a sincronização do estro. Após a primeira e segunda aplicações, o estro foi monitorado três vezes ao dia (6:00, 12:00 e 18:00 horas), com auxílio de rufião. Foi realizada uma única inseminação artificial, pelo método de fixação da cérvix, 12 horas após o início do estro. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrasonografia trans-retal, nos dias 21, 30 e 60 após a inseminação. A motilidade e vigor médios, após 12 ou 24 horas de resfriamento do sêmen a 5°C, foi de 66,14 ± 0,11% e 62,50 ± 0,05 %, e 3,46 ± 0,61 e 3,27 ± 0,50, respectivamente. As porcentagens de animais que entraram em estro após a primeira e segunda aplicações de PGF2α foram de 85,48% e 88,71%. O intervalo da aplicação da primeira e segunda doses de PGF2α ao início do estro foi de 41,04 ± 20,32 e 45,67 ± 9,28 horas, sendo a duração do estro, nas duas aplicações, de 40,02 ± 15,96 e 32,24 ± 12,09 horas, respectivamente. O intervalo da aplicação de PGF2α ao início do cio foi maior (P<0,05), embora a duração do estro fosse menor (P<0,05) para os cios induzidos após a segunda dose de PGF2α. A duração de estocagem do sêmen (12 ou 24 horas) não influenciou (P>0,05) as taxas de concepção obtidas. A taxa de concepção total foi de 49,09%. Da mesma forma, a categoria reprodutiva não influenciou (P>0,05) a taxa de prenhez das cabras inseminadas. Entretanto, o tipo de muco observado, no momento da inseminação, influenciou (P<0,05) na taxa de concepção das fêmeas inseminadas, sendo que o de aspecto estriado esteve associado aos maiores índices de concepção.

Palavras-chave: caprino, sêmen resfriado, inseminação artificial, taxa de concepção, prostaglandina, tipo de muco.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the fertilizing capacity of goat semen cooled in egg yolk diluent at 5°C, by 12 (TI) or 24 hours (TII). Sixty two Toggenburg female goats (11 nuliparous, 28 lactating, 14 dry and 2 with unknown condition), were uniformly distributed in two groups, as previously mentioned. Semen was collected from two sexually mature Toggenburg goat bucks. After being collected, the semen was diluted in Tris-fructose-egg yolk 2.5% and then envased in 0.25ml plastic straws, with 150 million mobile spermatozoa, cooled at 5°C for 12 or 24 hours. The females received two doses of 22.5µg of prostaglandine F2α, 10 days apart. After the first and second injections, the estrus was monitored 3 times a day (6:00, 12:00 and 18:00h), with a buck teaser. Just one insemination was used, by the cervix fixation method. The pregnancy was detected using a trans-rectal ultra-sound (5MHz probe), on 21, 30 and 60 days after artificial insemination. The average motility and strength, after 12 or 24 hours of cooled semen at 5°C was $66.14 \pm 0.11\%$ and $62.50 \pm 0.05\%$, and 3.46 ± 0.61 and 3.27 ± 0.50 , respectively. The percentage of animals that showed estrus after the first and second injection of PGF2α was 85.48% and 88.71%, respectively. The average intervals from first and second PGF2α injection to estrus was 41.04 ± 20.32 and 45.67 ± 9.28 h, and the estrus duration for both injections was 40.02 ± 15.96 and 32.24 ± 12.09 h, in this order. The interval from the PGF2α injection to beginning of the estrus was longer ($P < 0.05$), whereas the estrus duration was shorter ($P < 0.05$) in the estrus induced after the second PGF2α injection. The semen storage length (12 or 24 hours) did not affect ($P > 0.05$) the conception rate obtained. The total conception rate was 49.09%. In the same way, the age difference did not affect ($P > 0.05$) the pregnancy rate in inseminated goats. On the other hand, the mucous observed in the insemination time has influenced ($P < 0.05$) the fertility of inseminated goats, with the striated aspect associated to higher fertility.

Key-words: goat, cooled semen, artificial insemination, conception rate, prostaglandin, type of mucous

1. INTRODUÇÃO

O melhoramento genético da espécie caprina tem sido desenvolvido em diversos países, que vêm reconhecendo, há alguns anos, o potencial das diversas raças de leite e de corte. A utilização de reprodutores de elite representa o maior instrumento de multiplicação massal em programas de melhoramento genético, qualquer que seja a finalidade. Entretanto, no que diz respeito aos rebanhos especializados, a característica produção de leite não pode ser mensurada nos reprodutores diretamente. Desta forma, tem-se aplicado uma considerável soma de recursos visando à implantação de testes de progênie. Entretanto, os elevados investimentos envolvidos impedem a utilização destes reprodutores, reconhecida-mente melhoradores, em monta natural. Conseqüentemente, apenas a inseminação artificial (IA) poderia maximizar economicamente o seu uso.

Embora a prática da inseminação artificial em caprinos seja um procedimento antigo, somente há alguns anos se tornou comercialmente exequível em países do continente asiático, do oeste europeu, da África e na Austrália (Azawi et al., 1993). Segundo Gordon (1997), o desenvolvimento da inseminação artificial na antiga União Soviética, foi iniciado após a Primeira Guerra Mundial, utilizando Merinos australianos importados. Nas primeiras inseminações, o sêmen era utilizado imediatamente após a coleta. Índices de concepção de 75 a 80% eram observados em ovelhas inseminadas com sêmen a fresco, não diluído e com concentração de 120 a 150 milhões de espermatozóides em 0,05ml.

No Brasil, as primeiras inseminações em caprinos ocorreram em 1954 (Machado e Simplício, 1992). Porém, já em 1943 a inseminação artificial em ovelhas teve início no Rio Grande do Sul, como parte de um programa de melhoramento genético (Mies

Filho, 1982). Entretanto, apesar do seu potencial no incremento à produtividade e seleção dos animais, a inseminação artificial na espécie caprina e ovina ainda é pouco aplicada no Brasil, restringindo-se, basicamente, a trabalhos de pesquisa (Machado e Simplício, 1995).

A inseminação artificial possibilita a utilização de indivíduos genética e zootecnicamente superiores com menores custos por serviço. Além disso, elimina a necessidade de transporte dos animais, os custos e inconvenientes da manutenção de um grande número de machos na propriedade, além de possibilitar registros precisos sobre a reprodução do rebanho, o que possibilita a realização de programas de acasalamento e o controle de determinadas enfermidades. Associada ao teste de progênie, permite a identificação mais acurada dos reprodutores, tornando-se importante ferramenta para o melhoramento genético da espécie caprina.

Contudo, o seu uso em caprinos ainda é limitado, em comparação a outras espécies, devido à falta de informação técnica e apoio aos criadores, ao custo inicial para implantação de programas de IA, à deficiência da escrituração zootécnica em muitas propriedades, à falta de estrutura para comercialização e de um sistema de transporte adequado para o sêmen e, principalmente, às dificuldades no processo de preservação do sêmen sob a forma congelada, com resultados insatisfatórios nos índices de concepção.

Assim, o elevado preço de compra e manutenção de um reprodutor caprino, as restrições envolvendo a importação de animais e de sêmen, os menores danos causados às células espermáticas e, conseqüentemente, a maior viabilidade espermática, são fatores que justificam uma maior difusão do resfriamento do sêmen caprino entre os produtores brasileiros.

Estudos envolvendo a viabilidade do sêmen caprino resfriado e armazenado têm recebido pouca atenção nos últimos anos. Conseqüentemente, a literatura sobre o assunto é escassa. Assim, Lynset et al. (1965) citados por Ritar e Salamon (1993) observaram que a taxa de concepção após IA com sêmen caprino resfriado, armazenado por 12 horas, foi similar à inseminação com sêmen a fresco. Da mesma forma, Karatzas et al. (1997) obtiveram taxa de concepção significativamente maior (65,5%) com o sêmen resfriado a 16°C em relação à obtida com o sêmen congelado (53,4%).

Algumas pesquisas têm estudado a preservação do sêmen de caprinos “in vitro” e observado o efeito de diferentes reprodutores, temperaturas de armazenamento e durações de estocagem sobre características físicas e morfológicas do sêmen resfriado. Neste sentido, vale salientar o estudo de Roca et al. (1997) que observaram redução da motilidade e aumento do número de espermatozoides com patologia, proporcionais ao tempo de estocagem do sêmen. Estas alterações foram significativas após 48 horas de armazenamento do sêmen caprino resfriado a 5°C, em meio diluidor a base de gema de ovo. Em estudo realizado por Shamsuddin et al. (2000) a motilidade espermática média variou de 30 a 78%, dependendo do diluidor e tempo de preservação. O sêmen diluído em meio à base de leite apresentou motilidade espermática inferior ao diluído em meio à base de gema, sendo esta diferença significativa nos dias três e quatro de estocagem a 4°C. Em outro experimento, Leboeuf et al. (2003) observaram que o meio diluidor à base de leite foi mais eficiente para a preservação do sêmen a 4°C que a 15°C, com manutenção da motilidade espermática por até quatro dias. Além disso, nos espermatozoides armazenados a 4°C não foram observados os efeitos deletérios do plasma seminal.

Na mesma direção das pesquisas apresentadas anteriormente, diferentes autores têm documentado boa viabilidade dos espermatozoides ao serem submetidos ao processo de resfriamento. Porém, poucos avaliaram a capacidade fecundante dos espermatozoides. Há que se salientar, entretanto, que na espécie ovina, Salamon e colaboradores (1979) obtiveram taxa de concepção acima de 95% com sêmen armazenado a 5°C, por até quatro dias. O declínio significativo da taxa de concepção ocorreu somente após dez dias de estocagem.

Desta maneira, pretende-se, com este estudo, avaliar a viabilidade e a capacidade fecundante do sêmen caprino resfriado a 5°C e armazenado por um período de 12 ou 24 horas.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Fisiologia da reprodução da fêmea caprina

2.1.1 - Sazonalidade reprodutiva

Em regiões de clima temperado (em latitudes acima de 30°), a espécie caprina comporta-se como poliéstrica sazonal de dias curtos, ou seja, cicla várias vezes durante uma estação do ano, o outono. Do ponto de vista adaptativo, a concentração da atividade ovariana no outono garante o nascimento das crias na primavera, quando as condições de meio ambiente são mais favoráveis à sobrevivência das crias. Nas zonas tropicais, onde a variação da luminosidade é menor, este comportamento pode ser alterado, uma vez que animais adequadamente nutridos podem ciclar durante todo o ano (Moulin e Mouchrek, 1987; Mouchrek e Moulin, 1987).

O decréscimo da luminosidade do dia altera a produção e secreção da melatonina.

A variação da luminosidade é captada pela retina e transmitida à glândula pineal via sistema nervoso simpático. Quando o período de luminosidade diário é baixo, a glândula pineal eleva a produção de melatonina, a partir da serotonina, que tem como precursor o aminoácido triptofano. A melatonina é liberada na circulação periférica somente à noite e a duração do seu pico noturno varia com o comprimento da noite.

De acordo com Lincoln (1992) há duas hipóteses relacionadas ao mecanismo de ação da melatonina. A primeira hipótese propõe que o efeito primário da melatonina é sobre os neurônios catecolaminérgicos e/ou opióides, localizados na porção médio basal do hipotálamo. A melatonina pode influenciar a liberação de catecolaminas e/ou peptídeos opióides no hipotálamo, regulando a secreção pulsátil do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e, desta forma, influenciando a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH).

A segunda hipótese sugere que a ação primária da melatonina é sobre a *pars tuberalis* da hipófise anterior, onde se concentra o maior número de receptores para a melatonina. Em resposta a este hormônio, a *pars tuberalis* produz um fator desconhecido que afeta a função secretora da hipófise anterior. Com o aumento da produção de melatonina e, conseqüentemente, aumento da frequência e amplitude dos pulsos de liberação das gonadotrofinas, ocorre retorno dos animais à atividade reprodutiva.

A atividade reprodutiva na espécie caprina cessa gradualmente com o aumento do número de horas de luz solar por dia.

2.1.2 - Dinâmica folicular

A dinâmica folicular ovariana compreende o processo contínuo de crescimento e

regressão de folículos antrais que leva ao desenvolvimento dos folículos pré-ovulatórios nos ovários.

Durante o ciclo estral, e também durante o anestro sazonal, o crescimento folicular ocorre em um modelo de ondas (Ginther e Kot, 1994). A onda é definida como a emergência sincrônica de um grupo de pequenos folículos antrais ($\geq 2\text{mm}$), dos quais, normalmente, um ou dois folículos alcançam o diâmetro maior ou igual a 5 mm.

O intervalo entre ondas é o período compreendido entre a emergência do maior folículo ($\geq 3\text{mm}$ de diâmetro) de duas ondas foliculares, o qual está em torno de quatro a sete dias na espécie caprina (Menchaca e Rubianes, 2004).

De acordo com vários autores, podem ocorrer de duas a cinco ondas foliculares na espécie caprina. No entanto, há maior prevalência de ciclos estrais com quatro ondas (Ginther e Kot, 1994; de Castro et al., 1999; Schwarz e Wierzchos, 2000; Menchaca e Rubianes, 2002), com emergência nos dias zero, 5-6, 10-11 e 15, aproximadamente. O dia da emergência de cada onda é variável e depende do número de ondas de cada ciclo. Nas cabras que desenvolvem três ondas foliculares, a segunda onda emerge um a dois dias mais tarde e, a onda ovulatória (terceira onda), um a dois dias mais cedo, quando comparadas àquelas que manifestam quatro ondas de crescimento folicular.

De acordo com Menchaca e Rubianes (2004), algumas características das ondas foliculares mais freqüentemente observadas na espécie caprina, são:

- Um ou mais folículos, por onda, alcançam diâmetro maior ou igual a 5 mm;
- O maior folículo de uma onda cresce por 5-7 dias, com uma taxa de crescimento de 1 mm por dia;

- O diâmetro do maior folículo difere entre ondas, sendo que os maiores folículos das segunda e terceira ondas possuem diâmetro menor que os maiores folículos das ondas um e quatro. Desta forma, parece que o processo característico de dominância folicular na espécie caprina, ocorre somente na primeira e última ondas foliculares;
- Com o progresso da fase luteal e aumento das concentrações de progesterona, o *turnover* folicular é facilitado e o intervalo entre ondas é menor, em relação ao início da fase luteal;
- A maior parte dos folículos ovulatórios são aqueles com os maiores diâmetros no dia da luteólise;
- A maioria das duplas ovulações faz parte da mesma onda folicular mas, em poucos casos, é oriunda de folículos de ondas diferentes;
- As duplas ovulações ocorrem em um intervalo máximo de 24 horas uma da outra.

Do ponto de vista morfológico e fisiológico, podem ser identificadas, em cada onda, as fases de recrutamento, seleção e dominância folicular (Ginther et al., 1996). No entanto, do ponto de vista hormonal, são caracterizadas quatro classes de folículos, baseando-se na dependência e sensibilidade às gonadotrofinas: 1) gonadotrofina independente; 2) FSH dependente; 3) FSH - LH dependente; e 4) LH dependente (Ginther et al., 1996).

No período “gonadotrofina independente”, os folículos saem do estágio primordial de desenvolvimento e são comprometidos a crescer. O crescimento folicular está sob o controle de peptídeos intraovarianos e outros fatores parácrinos. Há, nesta fase, o desenvolvimento da zona pelúcida, a formação de várias camadas de células da granulosa e, diferenciação das células do estroma em células da teca. O fator de crescimento semelhante à insulina - II (IGF-II), provavelmente está envolvido nesta diferenciação (Perks et al., 1995, citado por Viñoles, 2003). Esta fase é caracterizada

pela expressão de receptores de FSH nos folículos pré-antrais.

Recentemente, descobriu-se que a ativina, um peptídeo sintetizado pelas células da granulosa folicular, possui habilidade de induzir a formação de RNAm para receptores de FSH (Nakamura et al., 1995, citado por Fonseca, 2002).

No período “FSH dependente” ocorre o recrutamento folicular (folículos de 1-2 mm). Nesta fase, a indução da atividade aromatase é um ponto crucial no desenvolvimento do folículo. Com o aumento da atividade aromatase há aumento da sensibilidade das células da granulosa ao FSH. O fator de crescimento semelhante à insulina - I (IGF-I) estimula a proliferação das células da granulosa e atua em sinergismo com o FSH para a sua diferenciação. Em ovinos, a janela de recrutamento tem duração de 36-48 horas (Viñoles, 2003).

No período “FSH - LH dependente” ocorre a seleção folicular, processo pelo qual um ou mais folículos com potencial para ovular diverge dos demais e escapa da atresia. Com um adequado suporte de FSH e aumento da atividade aromatase, os folículos secretam grande quantidade de estradiol (E2). A ação combinada do estradiol e do FSH induz a expressão de receptores para o LH nas células da granulosa. Os folículos alcançam, nesta fase, diâmetro aproximado de 3-5 mm.

No período “LH dependente” o folículo selecionado, através da produção de inibina, domina os outros folículos da mesma onda (subordinados) e impede o recrutamento de uma nova onda folicular (Ginther et al., 1996). As células da granulosa possuem receptores tanto para FSH como para o LH. A atividade aromatase nesta fase é máxima e, por esta razão, o folículo ovulatório (≥ 5 mm) possui alta quantidade de estradiol. Além disso, estimuladas pelo LH, as células da granulosa secretam pregnenolona que

pode ser convertida a andrógenos pelas células da teca. Os andrógenos, por sua vez, ao se difundirem pela membrana basal do folículo, são metabolizados em estradiol 17 – β .

Com aumento na produção de estradiol há redução da liberação de FSH. Os folículos subordinados, dependentes deste hormônio, entram em atresia, enquanto que o folículo dominante desenvolve mecanismos intrafoliculares que amplificam o suporte gonadotrófico (Fortune et al., 2004).

Mudanças na concentração do estradiol estão relacionadas à dinâmica folicular. O aumento de estradiol durante o início da fase luteal está associado com o desenvolvimento da primeira onda, ao passo que o aumento, ao final da fase luteal, relaciona-se à onda ovulatória. Os folículos que crescem no decorrer da fase luteal não produzem altos níveis de estradiol, provavelmente devido à alta concentração de progesterona (P4), que reduz a secreção pulsátil de LH e, com isso, o desenvolvimento folicular.

2.1.3 - Corpo lúteo

2.1.3.1 - Formação, estrutura e função

Após a ovulação, o folículo de Graaf se rompe e os vasos sanguíneos oriundos da teca interna proliferam, preenchendo a cavidade do folículo e transformando-o em um corpo vermelho conhecido como corpo hemorrágico. O desenvolvimento desta vascularização parece estar associado a fatores angiogênicos, tais como a prostaglandina-I₂, prostaglandina-E₂ e/ou o fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (Pate, 1996; Davis et al., 1996), secretados logo após a ruptura folicular (Zelevnik e Benyo, 1994). Após quatro/cinco dias da ovulação, o corpo hemorrágico transforma-se em um sólido corpo amarelo, o corpo lúteo (CL) (Evans e Maxwell, 1987).

O CL pode ser considerado uma glândula endócrina transitória que se desenvolve a partir da parede do folículo de Graaf, logo após a ovulação, por um complexo mecanismo que envolve mudanças morfológicas e bioquímicas (Sangha et al., 2002). Variações no seu tamanho, estrutura e atividade esteroidogênica relacionam-se ao estágio do ciclo estral ou da gestação, no qual a fêmea se encontra (Fields e Fields, 1996).

O CL consiste, principalmente, de dois tipos de células luteais ou esteroidogênicas, quais sejam: as células da granulosa, as da teca luteinizadas e vários outros tipos celulares como as células endoteliais, células do músculo liso, macrófagos, leucócitos e, ocasionalmente, células provenientes do plasma sanguíneo. Os tipos celulares variam grandemente em número, tamanho, estrutura, composição química e função durante o desenvolvimento, diferenciação e regressão do CL (Alila e Hansel, 1984).

Após a ovulação, as células da teca e da granulosa do folículo rompido sofrem uma série de mudanças estruturais e funcionais conhecidas como luteinização, que resulta em mudança na secreção, predominantemente de estradiol, para progesterona.

As células da granulosa adquirem características das células luteais grandes (esféricas, com 25-35 μ m de diâmetro, alta produção de progesterona e capacidade de secreção de oxitocina) e, representam aproximadamente 40% do volume do CL em cabras, embora elas constituam apenas 10% do número total de células. Da mesma forma, as células da teca adquirem propriedades das células luteais pequenas (ovaladas, com 15-22 μ m de diâmetro, responsividade ao hormônio luteinizante e ausência de produção de oxitocina), constituindo 20% do volume do CL e, aproximadamente, 25% do número total de células (Wiltbank e Niswender, 1992). A ausência de função proteico-secretora pelas

células luteais pequenas é evidenciada pela falta de retículo endoplasmático rugoso e de grânulos secretores no seu citoplasma.

Porém, desde que tratamentos “in vivo” com gonadotrofina coriônica humana (hCG) ou LH relatam o aumento do número das células luteais grandes, com correspondente redução do número de células luteais pequenas, é possível que um tipo celular possa se diferenciar em outro (Farin et al., 1988).

A hipertrofia das células da granulosa luteinizadas, hiperplasia dos fibroblastos do tecido conjuntivo, mitoses celulares e a alta vascularização contribuem para o aumento no tamanho e peso do CL. Sangha et al. (2002) relatam que o diâmetro médio das células do CL hemorrágico de cabras é de $35 \pm 2,2\mu\text{m}$. Com o progresso da fase luteal, o diâmetro médio aumenta para $49 \pm 1,73\mu\text{m}$ (Sangha et al., 2002) podendo chegar, durante a prenhez, a $50 \pm 1,97\mu\text{m}$.

As variações nas dimensões das células luteais são uma indicação direta da sua atividade esteroidogênica, com o diâmetro máximo sendo alcançado seis a nove dias após a ovulação, permanecendo inalterado até o 15º dia do ciclo estral, em ovelhas. Após o 16º dia, a regressão das células luteais inicia-se com uma série de mudanças em sua morfologia, sendo característica, a apoptose (Sangha et al. 2002).

O CL secreta a progesterona, como principal hormônio esteróide, além de pequenas quantidades de estradiol-17 β , prostaglandinas e vários hormônios peptídeos como relaxina, oxitocina, neurofisina, vasopressina e inibina.

Pelo menos mais três fatores, o fator de crescimento epidermal, o fator de crescimento fibroblástico e a insulina como fator de crescimento (IGF), são produzidos pelo CL. Estes fatores podem estimular a

angiogênese ou regular a esteroidogênese luteal (Wiltbank e Niswender, 1992).

Durante a luteinização, a produção de progesterona eleva-se mais de 10 vezes devido ao aumento na produção das enzimas esteroidogênicas. Além disso, algum aumento de P4 pode ser atribuído ao grande aumento do fluxo sanguíneo para o CL, permitindo a utilização de lipoproteínas séricas como fonte de colesterol para a esteroidogênese (Wiltbank e Niswender, 1992).

As células luteínicas pequenas produzem P4 em resposta à estimulação pelo LH, enquanto que as células luteínicas grandes possuem alta produção basal de P4, independentemente de estímulos externos.

O nível de P4 na corrente sanguínea atinge seu pico cerca de seis dias após a ovulação e permanece alto durante toda a gestação. Se há alguma falha no processo de fecundação ou de implantação, após 11-12 dias (na ovelha) e 13-14 dias (na cabra), o corpo lúteo diminui de tamanho, torna-se pálido (corpo albicans) e a secreção de P4 diminui (Evans e Maxwell, 1987).

Altos níveis de P4 sanguíneo exercem influência inibitória na secreção de gonadotrofinas pela hipófise, limitando assim o crescimento folicular. Uma vez removida esta inibição, com o fim da fase luteal, uma nova onda de crescimento folicular se desenvolve e um novo ciclo estral se inicia.

2.1.3.2 - Manutenção do corpo lúteo

Parece que em todas as espécies o LH exerce um papel crítico na manutenção da função luteal. O LH interage com seu receptor, presente na superfície das células luteais, cuja concentração e número aumentam da ovulação até alcançar o seu máximo no terço médio da fase luteal (Baird, 1992). Em ovelhas, cabras e vacas,

somente as células luteais pequenas respondem ao LH, com aumento na produção de AMPc e P4. Entretanto, as células luteais grandes também contribuem para a produção de P4, por mecanismos LH - independentes.

Denamur et al. (1966), através de experimentos com animais hipofisectomizados ou não, concluíram que o CL requer suporte hipofisário para a sua sobrevivência. Quando a hipofisectomia foi realizada nos dias 2-5 (início da fase luteal), o CL regrediu prematuramente, embora alguma secreção de P4 permanecesse por mais nove dias. O declínio observado na secreção de P4 foi muito mais rápido quando a hipofisectomia foi realizada no terço médio da fase luteal (dia 10). Estes experimentos sugerem que embora o CL requeira o LH para sua função normal, o início da fase luteal é relativamente independente do suporte hipofisário luteotrófico.

Da mesma forma, Baird et al. (1976) e Baird (1978) observaram que, durante a fase luteal, a maioria dos pulsos de LH foi seguida por aumento na concentração de P4, embora algumas flutuações na concentração de P4 tenham ocorrido independentemente dos pulsos de LH. Com o aumento da secreção de P4, a secreção de LH declina de um pulso por hora, no primeiro dia da fase luteal, para um pulso a cada 4-6 horas, no 12º dia (Baird, 1978). Quando os pulsos de LH são inibidos por volta do segundo dia, o CL é mantido, embora sua função secretora seja parcialmente comprometida pelo restante da fase lútea. Ao contrário, quando a inibição é feita próxima ao 13º dia, a queda no suporte luteotrófico resulta em rápida cessação da secreção de P4.

A explicação para este fato está relacionada à redução na frequência de pulsos de LH e aumento da secreção de prostaglandina F2 α (PGF2 α) pelo útero com o avançar da fase luteal. Dessa forma, o CL permanece vulnerável ao efeito luteolítico da PGF2 α

durante longos períodos entre os pulsos de LH, favorecendo a ocorrência da luteólise (Baird, 1992).

2.1.3.3 - Regressão do corpo lúteo

O período no qual o CL é refratário à ação luteolítica da prostaglandina é espécie dependente. Em porcas, o CL não é responsivo à PGF2 α até o 12º dia do ciclo estral (Garverick et al., 1992). Contudo, por volta do sexto dia após a ovulação, a administração de PGF2 α causa regressão do CL em ovelhas e vacas. Em cabras, Prosperi (2004) verificou a eficácia da PGF2 α em provocar o retorno ao cio, quando administrada no terceiro dia pós-estro, com uma taxa média de apresentação de cio de 69,23%. Esta responsividade é devida à aquisição de receptores para a prostaglandina pelo CL, já nos primeiros dias da fase luteal.

No momento da regressão lútea ocorre um aumento da secreção pulsátil de PGF2 α , aparentemente devido a indução, pela oxitocina, da secreção de PGF2 α pelas células do endométrio.

A justaposição e a circunvolução dos vasos sanguíneos ovarianos e uterinos permitem o transporte local (difusão) da PGF2 α , da veia uterina para artéria ovariana, permitindo que a PGF2 α alcance o CL sem a sua passagem pela circulação sistêmica (Wiltbank e Niswender, 1992).

Aproximadamente 13-14 dias após o estro, o endométrio de ovelhas desenvolve a capacidade de secretar PGF2 α em resposta à oxitocina. Isto é devido ao aumento na concentração de receptores para oxitocina nas células epiteliais do lúmen uterino. A síntese de receptores para oxitocina parece estar sob controle dos esteróides ovarianos, progesterona e estradiol-17 β . O útero deve ser exposto a adequadas concentrações de P4 para se tornar responsivo à oxitocina (Silvia, 1999).

A oxitocina estimula a secreção uterina de PGF2 α por interagir com os receptores de membrana na superfície de vários tipos de células endometriais, primariamente, as células epiteliais em ruminantes. A PGF2 α , por sua vez, atua sobre o CL promovendo a secreção luteal de oxitocina e ativando o feedback positivo que existe entre a prostaglandina uterina e a oxitocina luteal (Silvia, 1999).

A concentração de receptores endometriais para oxitocina é alta após, aproximadamente, 10 dias de exposição à P4. O tempo de resposta à P4 depende da exposição prévia do útero a uma adequada seqüência de P4 seguida por estradiol. Se o útero não é sensibilizado pela P4 e estradiol do ciclo anterior, a responsividade uterina à secreção de oxitocina se desenvolve prematuramente. Esta é a base endócrina para a regressão prematura do CL que ocorre, normalmente, quando ovelhas começam a ciclar após o anestro sazonal (Silvia, 1999).

Além disso, durante o terço médio da fase luteal, injeções de estradiol induzem a luteólise. Sabe-se que o estradiol aumenta a síntese de receptores endometriais para oxitocina e ativa as enzimas associadas com a síntese de PGF2 α . Ao contrário dos ruminantes, a injeção de estradiol durante o terço médio do ciclo estral em porcas prolonga a vida do CL (Garverick et al., 1992).

A PGF2 α , produzida pelo endométrio, induz a rápida exocitose dos grânulos secretores das células luteais grandes. Além disso, a PGF2 α induz a sua própria síntese pelas células luteais bovinas "in vitro". Desta forma, a prostaglandina pode contribuir para a luteólise, aumentando sua própria síntese dentro do CL (Silvia, 1999).

Uma das primeiras hipóteses relacionadas ao mecanismo de ação da PGF2 α é que ela causa redução do fluxo sanguíneo luteal, hipóxia dos tecidos luteais e, subsequente

regressão do corpo lúteo. Embora ocorra redução do fluxo sanguíneo, no momento da luteólise, este continua a ser cinco a vinte vezes maior no CL que no restante do tecido ovariano (Wiltbank e Niswender, 1992).

Está claro que a degeneração das células dos capilares endoteliais (assim como a degeneração de outros tipos de células luteais) ocorre durante a regressão luteal.

Assim, é possível que a redução do fluxo sanguíneo, que acompanha a regressão luteal, possa ser devido à degeneração de capilares luteais, do que à vasoconstrição causada pela PGF2 α (Wiltbank et al., 1990; Sangha et al., 2002).

Outra hipótese é que a PGF2 α age diretamente nas células luteais causando redução da produção de P4 e morte celular. Neste sentido, a PGF2 α se liga a receptores específicos presentes na membrana plasmática das células luteais grandes, ativa a fosfolipase C, levando à produção de Inositol trifosfato (IP3) e diacilglicerol. Conseqüentemente, há um aumento na concentração de cálcio livre e diminuição da produção de P4, aparentemente pela inibição do transporte intracelular de colesterol (Wiltbank e Niswender, 1991). Além disso, a PGF2 α levaria à degeneração e morte das células grandes luteais devido à elevação das concentrações intracelulares de cálcio livre.

2.1.3.4 - Insuficiência do corpo lúteo

Uma função lútea anormal ou inadequada ocorre naturalmente em várias situações fisiológicas nos ruminantes domésticos, tais como puberdade, pós-parto e início da estação reprodutiva. Tal ocorrência contribui, significativamente, para a infertilidade, uma vez que aumenta a taxa de perda embrionária (Hunter, 1991).

Além disso, a fase lútea de curta duração também ocorre após a indução da ovulação

nos tratamentos com GnRH em ovelhas em anestro e em vacas no pós-parto. Uma única injeção de grandes quantidades de GnRH (30-50µg) resulta em uma descarga de LH e ovulação, embora a maioria das fases luteais subseqüentes sejam inadequadas (Hunter, 1991). Da mesma forma, repetidas injeções de pequenas quantidades de GnRH (0,25µg), a cada duas horas, produzem “pulsos fisiológicos” de LH, mas que raramente resultam em fases luteais normais (Baird, 1992).

Como revisto por Garverick e Smith (1986), a insuficiência luteal pode ser dividida em dois grupos, de acordo com as características de secreção plasmática de P4. Assim, pode ser produzida por um CL de vida curta e que responde por um aumento transitório na secreção de P4, ou por um CL de vida normal, mas que secreta baixos níveis de P4 (menos que 1,5 ng/ml). Em geral, a maioria dos CL inadequados que ocorrem naturalmente em ruminantes é os de vida curta, sendo aqueles com reduzida secreção de P4 e períodos de vida normal, normalmente resultado de ovulação induzida.

A maioria dos estudos que investigam os mecanismos associados à função lútea subnormal utiliza como modelo o CL formado após a primeira ovulação pós-parto, induzida ou natural, em ovelhas ou vacas. Este modelo é geralmente caracterizado por ciclo estral de curta duração (7-10 dias), com redução da concentração de P4 após 5-6 dias, em comparação aos animais apresentando fase lútea de duração normal (Garverick et al., 1992).

Os mecanismos associados à função lútea subnormal incluem: desenvolvimento inadequado do folículo pré-ovulatório, redução do suporte luteotrófico e/ou liberação prematura de prostaglandina. Em vacas, o CL de vida curta não está

relacionado à maior sensibilidade aos efeitos luteolíticos da PGF2 α .

O ambiente endócrino no qual o folículo é exposto, antes da ovulação, tem fundamental influência na função do CL (Baird, 1992). Assim, a preparação das células luteais para subseqüente síntese e secreção de P4 começa durante a fase folicular, antes da ovulação. Ações coordenadas do FSH e LH são necessárias para a preparação adequada das células foliculares para luteinização e subseqüente produção de P4 (Garverick et al., 1992).

Como revisto por Hunter (1991), vários estudos têm sugerido que o CL de vida curta em ovelhas e vacas pode resultar do inadequado desenvolvimento folicular. Em primatas e humanos, a redução de FSH ou da relação FSH/LH durante o período pré-ovulatório é seguida por fase luteal curta, acompanhada por baixa produção de P4. Em ruminantes domésticos não existe unanimidade sobre o tema. Ramirez-Godinez et al. (1982) relataram redução da concentração de FSH, mas não de LH, durante os quatro dias que precedem uma fase luteal curta. Contrariamente, concentrações e padrões de secreção de FSH e LH durante o período pré-ovulatório não diferiram em vacas no pós-parto que exibiram CL de vida curta ou apresentando duração normal (Garverick et al., 1988). Contudo, Garcia-Winder et al. (1986) relataram alta frequência de pulsos de LH durante a fase folicular em vacas com fase luteal normal, em relação às com fase luteal de curta duração.

Vários estudos relataram baixa concentração de E2 no plasma ou no fluido folicular de vacas e ovelhas apresentando CL de vida curta. Além disso, o baixo número de receptores foliculares para LH/hCG, nas células da granulosa e teca dos folículos pré-ovulatórios, tem sido relatado em vacas e ovelhas com CL de curta duração (Garverick et al., 1992). Da mesma forma,

White et al. (1985) observaram que um maior número de receptores para LH e/ou maior secreção de estradiol são requeridos para que o folículo se torne um CL funcional com vida útil normal.

Garverick e Smith (1986) observaram que altas concentrações de estradiol-17 β intrafolicular e adequada vascularização das células da teca podem ser importantes determinantes da função luteal.

Zollers et al. (1992), citados por Fonseca (2002) relataram que a concentração de receptores de oxitocina no endométrio foi maior no dia cinco em vacas com CL de curta duração. Adicionalmente, Hunter (1991) relatou que a concentração de receptores endometriais de oxitocina é alta no dia 1, 3 e 5 em ovelhas com fase luteal curta.

Assim, Garverick et al. (1992) sugerem ser o CL de vida curta associado à liberação prematura de PGF2 α no útero. Quando vacas no pós-parto (assim como as pré-puberres e em anestro) foram histerectomizadas antes da primeira ovulação pós-parto, o CL foi mantido e a secreção de P4 foi similar àquela observada durante uma fase lútea de duração normal. Da mesma forma, a infusão de indometacina (um potente inibidor da síntese de prostaglandina) prolongou a duração da fase luteal em animais com fase luteal curta.

Também observou-se que a concentração de PGF2 α venosa foi maior nos dias 4-9 seguintes à primeira ovulação em vacas tendo um CL de curta duração, em relação às fêmeas apresentando fase luteal normal. Da mesma forma, concentrações plasmáticas de metabólitos de PGF2 α aumentavam a partir dos dias 3-5 em ovelhas em que se observou fase luteal curta. Há também aumento coincidente nos metabólitos de PGF2 α e de oxitocina no plasma de vacas durante a luteólise em um ciclo estral curto. O mecanismo pelo qual o

tempo de secreção de PGF2 α é adiantado durante um ciclo curto não está claro (Garverick et al., 1992).

2.1.4 - Duração do ciclo estral

Em cabras, a duração média do ciclo estral é de 21 dias, com variação de 17 a 25 dias. De acordo com Gordon (1997), cerca de 77% dos ciclos estrais são normais (17-25 dias), 14% são curtos (<17 dias) e 9% longos (>25 dias). No entanto, vários autores observaram frequência de ciclos curtos de 8,33 a 79% (Nishikawa et al., 1963; Prasad, 1979; Gonzáles e Bury, 1982; Simplício et al., 1982, citados por Cerbito et al., 1995). Além disso, observa-se maior frequência de ciclos curtos com duração de cinco a oito dias (Camp et al., 1983 – 44%; Chemineau, 1986 – 45%).

A alta frequência de ciclos estrais curtos parece ser uma característica da espécie caprina, sendo observada por vários pesquisadores (Prasad, 1979; Chemineau, 1983; Simplício et al., 1986; Cerbito et al., 1995; Menchaca e Rubianes, 2002). A sua ocorrência está relacionada à presença de um corpo lúteo de vida curta, com baixa produção de progesterona ou, à ativação precoce de fatores luteolíticos.

Nos períodos de transição, que correspondem ao início e final da estação reprodutiva, os ciclos apresentam duração irregular, nem sempre acompanhados por manifestação de estro (Smith, 1986). Nesta fase, ciclos curtos de cinco a sete dias são comuns, seguidos por ciclos de duração normal.

Ciclos curtos também podem ser observados em cabras no pós-parto (Riera, 1982), após aborto induzido por prostaglandina F2 α (Brettslaff et al., 1982) e após programas de superovulação com gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) (Saharrea et al., 1998).

Durante a luteólise, o estradiol originado nos folículos exerce papel fundamental na secreção de PGF2 α . Quando a superovulação é induzida com eCG, a concentração de estradiol permanece elevada no início da fase luteal, alcançando seu pico quatro dias após o início do estro (Saharrea et al., 1998). O estradiol é proveniente de folículos que continuam sendo recrutados e estimulados durante o início da fase luteal, provavelmente devido à longa meia vida do eCG na circulação. Assim, sugere-se que a regressão luteal se deve à secreção precoce de PGF2 α , induzida pelas altas concentrações de estradiol.

Neste contexto, Saharrea et al. (1998) encontraram incidência de 57% de regressão luteal precoce (seis dias) e Armstrong et al. (1982, 1983, 1987) observaram variação de 81 a 100% de ciclos curtos, quando o eCG foi utilizado para induzir superovulação.

A indução e sincronização do estro com progestágenos também podem favorecer a ocorrência de ciclos curtos. De acordo com Menchaca e Rubianes (2001, 2002), a progesterona pode afetar o suporte luteotrófico do corpo lúteo e/ou estimular a liberação precoce de luteolisina.

As altas concentrações de progesterona, no início da fase luteal, obtidas por meio de esponjas e/ou dispositivos intravaginais, diminuem a frequência de liberação de LH, de forma a afetar não somente o suporte luteotrófico do corpo lúteo, mas também a capacidade do folículo secretar estradiol.

Dessa forma, Menchaca e Rubianes (2004) observaram que 50% das cabras tratadas com progesterona tiveram ciclo curto (média de 8 dias) e, a outra metade, ciclos normais, porém, de duração menor que a do grupo controle ($18,3 \pm 0,3$ vs $20,0 \pm 0,2$ dia, respectivamente).

Além disso, observa-se maior frequência de ciclos curtos em nulíparas que em

multíparas (70% e 30%, respectivamente; Prasad, 1979) e, também, em climas quentes e úmidos (20% - Prasad e Bhattacharyya, 1979; 50% - Cerbito et al., 1995). Contrariamente, a frequência de ciclos curtos é reduzida (38% vs 27%) quando os animais recebem suplementação alimentar (Chemineau, 1986).

Cabras não submetidas a tratamentos hormonais e que se encontram em plena atividade reprodutiva podem também manifestar ciclos de curta duração, principalmente, devido ao crescimento folicular e ovulação no ovário contralateral, cinco a 10 dias após o estro (Prasad, 1979; Cerbito et al., 1995).

De acordo com Chemineau (1986), ciclos curtos, mas de duração idêntica, podem estar associados à presença do macho. Ciclos curtos também estão associados a estros de curta duração, à menor taxa de ovulação e à menor fertilidade (Cerbito et al., 1995).

Por outro lado, os ciclos longos estão mais presentes no início e final da estação reprodutiva, e também em animais submetidos a longos tratamentos de indução/sincronização de cio com progesterona. Neste caso, observa-se que, após seis dias de tratamento, há declínio na concentração de progesterona a níveis subluteais (2 ng/ml; Menchaca e Rubianes, 2004). A baixa concentração plasmática de progesterona aumenta a frequência de pulsos de LH, mas não o suficiente para haver ovulação. Assim, o folículo dominante continua a crescer, a segunda onda inicia-se mais tardiamente, provocando um aumento subsequente da duração do ciclo.

2.1.5 - Estro

2.1.5.1 - Características comportamentais

As cabras em estro apresentam-se inquietas, procuram pelo macho, vocalizam, urinam

com maior frequência, batem lateralmente a cauda, montam e se deixam montar pelas companheiras de baia ou pelo rufião, diminuem a produção de leite e o consumo alimentar. A vulva apresenta-se hiperêmica, contrátil e com eliminação de muco. Este tem aparência cristalina no início do estro, passando a estriado e finalmente caseoso, ao final do estro. A hiperemia da vulva e a descarga vaginal podem ser observadas um a dois dias antes do início do estro, sendo mais evidentes no seu decorrer.

O batimento lateral da cauda vai de - 60 a + 35 horas relativas ao estro e aumenta a - 12 horas, atingindo o pico no estro. O batimento de cauda é a melhor característica para a identificação de animais em cio, que é definitivamente evidenciado pela imobilidade à monta (Gordon, 1997). Nem todas estas características são evidentes na mesma fêmea, além de haver variação nos diferentes períodos do estro.

Os machos, quando da detecção da fêmea em estro, expõem a língua e o pênis, vocalizam, batem a pata no chão e no flanco da cabra, apresentam reflexo de flêmen e montam a fêmea.

2.1.5.2 - Período de manifestação

A detecção adequada do cio é de fundamental importância para a escolha do momento apropriado para se realizar a inseminação artificial ou cobertura.

Fonseca et al. (2005) trabalhando com indução de cio em cabras com progestágenos e frequência de rufiação de três vezes ao dia, observaram que 84,8% dos cios manifestaram-se pela manhã (6:00 horas), 6,1% ao meio-dia e 9,1% à tarde (18:00 horas).

Em porcas, Burger (1952), citado por Nogueira (1982), observou que o número de fêmeas que apresentam cio durante o dia é idêntico ao daquelas que o manifestaram à

noite. Por outro lado, Nogueira (1982) observou que 59,80% das fêmeas suínas demonstram cio pela manhã (6:00 horas), 31,95% ao meio dia, e 8,25% até as 18:00 horas.

Alguns fatores como categoria reprodutiva, estação do ano e contato com o macho podem interferir na eficiência da identificação do cio.

Segundo Evans e Maxwell (1987), as cabritas apresentam períodos de cio mais curto que as cabras. Além disso, a presença de fêmeas adultas pode afetar adversamente o comportamento sexual das cabritas alojadas na mesma baia.

Temperaturas elevadas podem também afetar negativamente a intensidade dos sinais de cio. Dessa forma, Hughes e Hemsforth (1994) relataram a existência de maior proporção de leitoas que ovularam e não foram detectadas em cio na época do verão, em relação ao restante do ano. Além disso, nos períodos de transição, que correspondem ao início e ao final da estação reprodutiva, os ciclos apresentam duração irregular, nem sempre acompanhados por manifestação de estro (Smith, 1986).

O contato frequente da fêmea com o macho impede que este funcione como estimulador do início do cio e da intensidade das suas manifestações, já que a fêmea se habitua à sua presença.

Hemsforth et al. (1988) alojaram leitoas em baias adjacentes aos machos, com grade divisória, o que resultou em taxa de detecção de cio significativamente menor (69%), quando comparada com leitoas alojadas em baias distantes das dos machos (97%).

Da mesma forma, em cabras, Chemineau (1983) observou que a eficiência do macho, no que se refere à indução da manifestação

do cio, ocorre somente após um período de isolamento do contato com as fêmeas.

Além disso, durante a detecção do cio, é recomendável que se faça revezamento dos machos, já que as fêmeas, assim como os machos, podem manifestar preferências individuais (Fonseca, 2005, comunicação pessoal).

Apesar disso, a presença do macho é um importante instrumento na detecção do estro. Signoret (1970) relata que somente 48% das leitoas demonstram cio na ausência do macho e, que este valor aumentou para 90% após estímulos sonoros e olfatórios, atingindo 100% quando se adicionaram aos anteriores, os estímulos visuais e táteis.

2.1.5.3 - Duração do estro

A duração do estro em cabras pode variar de 16 a 50 horas, com duração média de 36 horas. Fatores como a idade, localização geográfica, genética e contato com machos, podem influenciar a duração do estro.

Estros curtos são mais frequentes em animais jovens. Em cabras mais velhas a duração do estro pode chegar a 40 horas, enquanto que em cabritas, varia de 18 a 30 horas (Evans e Maxwell, 1987).

Porém, Simplício et al. (1986) estudando animais jovens (18-24 meses), sem raça definida, observaram média de 56,8 horas de duração de cio natural, com variação de 12 a 192 horas. Do total de estros observados, 50% tiveram duração maior que 60 horas. Além disso, o estro teve duração maior nos períodos chuvosos (62 horas) quando comparado ao da estação seca (51,2 horas).

Em animais da raça Toggenburg, a duração média do estro natural observada por Jarosz et al. (1971) foi de quatro dias.

De acordo com Evans e Maxwell (1987), fêmeas que apresentam cio de curta duração são menos férteis quando comparadas aquelas com longos períodos de estro. Neste caso, a fertilidade pode estar relacionada ao número de ovulações, uma vez que cabras com curtos períodos de estro raramente apresentam duplas ovulações. Contudo, quando o período de cio é de 24-60 horas, não há relação entre duração do estro e número de ovulações.

Fonseca (2002) utilizando um protocolo envolvendo duas aplicações de análogo de prostaglandina (d-cloprostenol), intervaladas de 10 dias, para sincronização do estro em cabras da raça Alpina e Saanen, observou $31,7 \pm 11,1$ e $16,2 \pm 10,8$ horas de duração de cio, após a primeira e segunda aplicação de PGF 2α , respectivamente. A duração do estro após a segunda aplicação foi significativamente menor que a duração do estro após a primeira dose de PGF 2α . Segundo este pesquisador, a segunda dose de PGF 2α pode ter coincidido com os estádios finais de crescimento do folículo dominante da primeira onda do ciclo estral, o que pode ter promovido uma resposta diferenciada na duração do estro. Além disso, o contato contínuo com os machos rufiões pode estar envolvido no encurtamento da duração do estro após a aplicação da segunda dose de PGF 2α .

Utilizando também um protocolo envolvendo duas aplicações de PGF 2α , intervaladas de 10 dias, Prosperi (2004) encontrou $36,00 \pm 27,28$ horas de duração média de cio após a segunda aplicação. Com um protocolo reduzido de sete dias, a duração do estro, após a aplicação da segunda dose, foi de $34,29 \pm 12,83$ horas.

2.1.5.3.1 - Influência do efeito macho e do efeito fêmea sobre a duração do estro

A exposição contínua ao macho pode levar ao encurtamento do ciclo estral e estro, estimular a puberdade em cabritas, bem

como a manifestação do cio no início da estação reprodutiva (Chemineau, 1986).

O efeito macho se dá, principalmente, por ação de ferormônios, que ativam as conexões neuronais entre o trato olfatório e o hipotálamo anterior, levando a um aumento na frequência de pulsos de LH e ovulação (Knight, 1983, citado por Valle, 1997), embora a maioria dos estros observados após a introdução dos machos, seja anovulatório.

O isolamento do macho por pelo menos três semanas desencadeia uma resposta ovulatória em 97% das fêmeas em anestro, 2,8 dias após sua introdução (Chemineau, 1983). A primeira ovulação foi associada ao estro em 68% dos casos e seguida por corpo lúteo de curta duração, em 76% dos casos (Chemineau, 1983).

O efeito macho associado ao tratamento com progesterona restaura a função normal do corpo lúteo, reduzindo a frequência de regressão luteal precoce. Chemineau (1983) observou que o tratamento com progesterona reduziu para 5% (esponjas) e 0% (injeção) a ocorrência de ciclos estrais curtos, enquanto que no grupo controle, 87% dos ciclos observados foram curtos. Dessa forma, quando se introduz um macho em um grupo de fêmeas, a aplicação concomitante de progesterona pode impedir a regressão luteal precoce.

A presença de outras fêmeas também estimula o aparecimento do estro, mas em menor intensidade que a presença do macho (Walkden-Brown et al., 1994).

2.1.5.3.2 - Influência do efeito pênis sobre a duração do estro

Romano (1994) observou a influência da monta, da estimulação mecânica da vagina por um pênis artificial e da deposição de fluido das glândulas sexuais acessórias na duração do estro. A monta e a estimulação

mecânica da vagina reduziram, significativamente, a duração do estro ($22,8 \pm 5,0$ e $27,6 \pm 6,8$ horas, respectivamente vs $42,0 \pm 9,5$ horas – grupo controle).

Em outro estudo, Romano et al. (1997) observaram redução de até 45% na duração do estro em cabras submetidas à monta por um macho vasectomizado.

Dessa forma, conclui-se que o encurtamento do estro é causado pelo contato mecânico do pênis com o fórnix vaginal, já que não houve diferença entre monta com penetração e ejaculação, ou a monta acompanhada pela penetração de um pênis artificial.

Além disso, a distensão vaginal provoca aumento da atividade miometrial, à curto prazo por arco reflexo simples e, à longo prazo, por ação da oxitocina (Hawk e Conley, 1972), influenciando o transporte espermático.

Na espécie suína, a exposição de fêmeas aos machos provoca adiantamento do primeiro cio em marrãs, bem como aumenta o tamanho da leitegada (Reis, 1997). Segundo Signoret et al. (1972), o estímulo da monta aumenta a taxa de nascimento por provocar aumento das contrações uterinas e do trânsito espermático.

2.2 - Momento da inseminação artificial

O aumento da eficiência da inseminação artificial implica em se obter ótima performance reprodutiva utilizando-se, preferencialmente, uma única inseminação, com o mínimo de células espermáticas.

O período no qual uma única inseminação resulta em ótima taxa de fecundação, restringe-se ao momento da ovulação e está relacionado à sobrevivência dos gametas feminino e masculino, ao transporte espermático, ao momento da inseminação, à duração do estro, dentre outros fatores.

2.2.1 - Longevidade dos gametas

Na espécie caprina, os espermatozoides sobrevivem no útero e na tuba uterina por somente 10-12 horas. O tempo de sobrevivência do gameta feminino, após a ovulação, é de 12-24 horas. Se os espermatozoides e/ou o ovócito iniciarem seu processo de envelhecimento, a fecundação pode não acontecer ou, se acontecer, pode resultar em desenvolvimento anormal do embrião ou sua degeneração (Evans e Maxwell, 1987).

2.2.2 - Momento da ovulação

O sucesso da fertilização depende do momento da inseminação em relação ao da ocorrência da ovulação. Na espécie caprina, a ovulação ocorre no terço final do estro, aproximadamente 30-36 horas após seu início. Nas fêmeas que apresentam estro de curta duração, a ovulação pode ocorrer após o seu término (Smith, 1986).

De acordo com Prasad et al. (1980), o momento da ovulação varia em função da raça. Dessa forma, 100% das cabras da raça Barbari ovularam 32 horas após o início do estro natural. Porém, em estudo anterior, onde a mesma raça foi utilizada, todas as cabras observadas ovularam dentro de 36 horas do início do estro natural (Prasad, 1979).

Em cabras da raça Toggenburg, a ovulação é mais tardia ocorrendo 4,3 dias após o início do estro, de duração de quatro dias (Jarosz et al., 1971). Prasad e Bhattacharyya (1979) observaram a ocorrência de ovulações entre 10 e 40 horas após o início do estro, em cabras núlparas da raça Barbari.

Em animais submetidos à sincronização de cio utilizando protocolos franceses, a ovulação ocorre, em média, $52 \pm 4,5$ horas após a remoção da esponja, com variação de 44 a 68 horas, o que leva à recomendação de

que a inseminação seja realizada 43 a 45 horas após a sua remoção (Leboeuf et al., 1998).

Utilizando a prostaglandina para sincronizar o estro, Ott et al. (1980b) observaram eficiência tanto na sincronização do cio (100% de manifestação de estro em 50 ± 1 hora após a segunda aplicação de PGF2 α) como também da ovulação. O pico de LH ocorreu 55 ± 2 horas após a segunda aplicação de PGF2 α em 95% das cabras tratadas.

Independentemente do tratamento hormonal utilizado, é preferível inseminar as fêmeas pouco antes (5-10 horas), do que após a ovulação (Ritar, 1993). Ritar et al. (1990b) observaram que os melhores resultados na taxa de prenhez foram obtidos quando a inseminação foi realizada antes da ovulação (44% para inseminação cervical e 69,6% para inseminação laparoscópica). Quando a inseminação foi realizada pós-ovulação, a taxa de prenhez obtida variou de 34,2% e 56,7% para inseminações cervical e laparoscópica, respectivamente (Ritar, 1993).

Fonseca (2002) obteve uma taxa de gestação de 62,5% em cabras inseminadas após a ovulação. Os tempos mínimo e máximo observados do início do estro à ovulação foram de 8-36 horas e 5-28 horas para cabras das raças Alpina e Saanen, respectivamente, com média geral de $17,6 \pm 10,7$ horas. A duração média do estro, neste estudo, foi de $16,2 \pm 10,8$ horas. De acordo com este autor, a inseminação após a ovulação pode levar à fecundação e formação de embriões com crescimento retardado, que posteriormente são perdidos.

2.2.3 - Relação entre duração do estro e momento da inseminação artificial

Incrementos na taxa de concepção são obtidos quando a inseminação é realizada no terço final do estro (Sahni, 1987).

Em um sistema de manejo onde as inseminações foram realizadas de oito a 15 horas após a detecção do estro, a taxa de não retorno foi de 47,7%. Porém, quando as inseminações foram efetuadas 12 horas após a observação do estro, a taxa de não retorno atingiu 83,3% (Azevedo et al., 1995).

Dauzier (1966) observou que a taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen resfriado, em diferentes intervalos do início do cio natural, foi maior quando a inseminação foi realizada no início do período de estro.

Dessa forma, maior taxa de concepção (70%) foi obtida quando a inseminação foi realizada nas primeiras 12 horas do estro. A taxa de concepção diminuiu para 63% quando a inseminação foi realizada entre 12 – 24 horas do início do estro, enquanto que as inseminações realizadas após 24 horas responderam por uma taxa de concepção de 47% (Dauzier, 1956).

Resultados de concepção variando de 60,7 a 87%, após uma única inseminação, realizada entre 12-24 horas após o início do estro natural, foram descritos por Dauzier (1966), Corteel (1971), França (1981) e Vivanco et al. (1982). Da mesma forma, Corteel (1971), usando sêmen congelado, observou melhor taxa de concepção (66,9%) quando a inseminação foi realizada 6-12 horas após o início do cio, diminuindo para 49% quando realizada com 36-48 horas (Tabela 1).

Quando programas de indução e sincronização do estro e ovulação são utilizados, a inseminação é comumente realizada considerando-se o tempo de retirada da esponja ou do dispositivo intravaginal. Nos protocolos franceses, a inseminação cervical é realizada 43 h (em cabras da raça Alpina) ou 45 horas (em cabras da raça Saanen) após a remoção da esponja (Corteel e Leboeuf, 1990).

Utilizando-se o protocolo de curta duração (cinco dias de permanência da esponja), Rubianes e Menchaca (2003) observaram que 90% das cabras manifestaram estro, em um período médio de 30 horas após o término do tratamento. A taxa de prenhez foi de 80% após monta natural e de 70% com inseminação utilizando sêmen a fresco, 12 horas pós o início do estro. O momento ideal para se realizar uma única inseminação foi com 54 horas após a retirada da esponja, com taxa de concepção de até 70%.

A taxa de concepção observada em estros sincronizados com PGF2 α foi de 94%, utilizando-se monta natural, sendo a primeira monta realizada no início do cio (0 hora) e as subseqüentes com 12 horas de intervalo, até o término do cio (Ott et al., 1980a).

Tabela 1 - Fertilidade de cabras inseminadas uma única vez, a diferentes períodos de tempo em relação ao início do estro natural

Período (h)	Sêmen	Nº de fêmeas	Concepção (%)	Fonte
0-12	A fresco	742	70,0	Corteel, 1981
12-24	A fresco	646	63,0	Corteel, 1981
24	A fresco	248	47,0	Corteel, 1981
0-12	Resfriado	742	70,0	Dauzier, 1966
12-24	Resfriado	646	63,0	Dauzier, 1966
24	Resfriado	248	47,0	Dauzier, 1966
0-6	Congelado	-	59,6	Corteel, 1971
6-12	Congelado	-	66,9	Corteel, 1971
12-24	Congelado	-	60,7	Corteel, 1971
24-36	Congelado	-	50,7	Corteel, 1971
36-48	Congelado	-	49,0	Corteel, 1971

Adaptado de Simplício, 1987.

2.2.4 - Relação entre as características do muco e o momento da inseminação artificial

O volume, a aparência e a consistência do muco variam durante o período de estro. As alterações nas características do muco se devem à presença de células de descamação do epitélio do sistema genital feminino. No início do estro o muco é cristalino e há pouca secreção; após 12-18 horas, ele se torna estriado e abundante e, com 25-30 horas do início do estro, torna-se denso e com aparência caseosa (Evans e Maxwell, 1987).

A observação do muco, e da sua alteração durante o período de cio, pode ser usada para estimar o melhor momento do estro para se realizar a inseminação, uma vez que há correlação entre o tipo de muco observado no momento da inseminação e a taxa de fertilidade. Dessa forma, o melhor momento para se realizar a inseminação é quando o muco apresenta-se estriado e abundante (12-18 horas após o início do estro). Taxas de parto de 76,2 e 86,4% foram observadas em cabras inseminadas quando o muco cervical apresentava-se com aspecto cristalino e estriado, respectivamente (França, 1981).

Entretanto, quando a inseminação é realizada na presença de muco com aspecto cristalino, recomenda-se uma segunda inseminação, 12 a 14 horas após a primeira (Bonfert, 1964, citado por Simplício, 1987).

2.3 - Tratamentos hormonais para indução e sincronização do estro

A indução e sincronização do estro e da ovulação são importantes práticas de controle reprodutivo, principalmente quando aplicadas em animais estacionais como os caprinos. Elas permitem a manipulação reprodutiva, concentrando as atividades do rebanho, como a monta natural ou inseminação artificial e a estação de

nascimento, facilitando o manejo reprodutivo da propriedade. Além disso, permitem um planejamento da produção e da oferta de carne e leite.

A sincronização pode ser obtida pela redução da fase luteal, com a aplicação de prostaglandinas, que pode ser feita em dose única ou dupla, intervaladas de 11 dias; ou pela introdução do macho junto às fêmeas, que além de possibilitar a sincronização, antecipa a atividade reprodutiva das cabritas e das fêmeas em anestro. Pode, também, ser realizada prolongando-se a duração da fase luteal, utilizando uma combinação de progestágenos, gonadotrofinas e prostaglandinas, em caso de fêmeas em anestro sazonal (Fonseca, 2002).

Kusima et al. (2000) compararam a eficácia e a fertilidade após a sincronização do estro com esponjas de progesterona, implantes auriculares de norgestomet, cloprostenol, ou uma combinação de esponjas de progesterona e cloprostenol. A manifestação do estro variou de 67 a 80%, embora não diferisse entre tratamentos. A taxa de parto também foi similar entre tratamentos (variação de 64 a 83%), ao passo que os custos dos tratamentos com esponjas ou com implantes auriculares foram de 1,2 e 1,8 vez maiores, respectivamente, que o do tratamento com prostaglandina.

O sucesso dos métodos de indução/sincronização de estros varia de acordo com o estado reprodutivo da cabra (Smith, 1986).

2.3.1 - Progestágenos

Nas primeiras pesquisas utilizando tratamentos com progestágenos para induzir ou sincronizar o cio, a esponja permanecia no animal por um período de 11 a 19 dias (Quinlivan e Robinson, 1969; Corteel et al., 1988; Baril et al., 1993).

Porém, estes estudos relatavam uma baixa taxa de fertilidade (menor que 50% em 25% dos rebanhos avaliados), apesar de serem eficientes quanto à sincronização (Leboeuf, 1989, citado por Baril et al., 1993).

A duração do tratamento com progestágenos parecia ser o fator principal responsável pela redução da concepção. Quinlivan e Robinson (1969) verificaram que a exposição prolongada a progesterona prejudica a migração dos espermatozoides através do trato reprodutivo da fêmea. A permanência da esponja por um período de 16 dias diminuiu a população de espermatozoides nos reservatórios espermáticos (cérvis e istmo), provavelmente, pela redução da eficiência do transporte espermático.

Além disso, em tratamentos prolongados com progesterona observa-se também a ocorrência de ciclos longos e de folículos persistentes.

De acordo com Menchaca e Rubianes (2004), após seis dias de tratamento com o CIDR[®] (*Controlled Internal Drug Release*), a concentração de progesterona sérica diminui a níveis subluteais (2 ng/ml), e permanece baixa até o momento da sua retirada, aos 12 dias. O mesmo acontece quando são utilizadas esponjas contendo acetato de medroxiprogesterona (MAP) e fluorogestona (FGA).

Níveis subluteais de progesterona aumentam a frequência de pulsos de LH, mas não o suficiente para haver o pico pré-ovulatório. Com isso, o folículo cresce excessivamente, persiste por um longo período e inicia seu processo de envelhecimento (Menchaca e Rubianes, 2004).

Em vacas, a ovulação de um folículo envelhecido é seguida por baixa taxa de fertilidade, provavelmente devido ao reinício da meiose do ovócito (Stock e Fortune, 1993; Austin et al., 1999).

Com a redução do período de exposição a progesterona para 11 dias, as taxas de concepção em cabras elevaram-se de 57 para 61% (Corteel et al., 1988, citados por Leboeuf et al., 1998).

Da mesma forma, tratamentos com esponjas intravaginais contendo 60 mg de MAP, por um, dois, três, seis e 12 dias resultaram em taxas de concepção de 12,5%, 20%, 50%, 75% e 68,8%, respectivamente, havendo diferença significativa entre os tratamentos de seis e 12 dias de duração (Ungerfeld e Rubianes, 1999).

Utilizando o protocolo de curta duração (cinco dias de permanência da esponja), Rubianes e Menchaca (2003) observaram que 90% das cabras manifestaram estro, em um período médio de 30 horas após o término do tratamento. Contudo, com o uso de tratamentos de curta duração com progestágenos, inferior à duração da fase luteal, o tempo de ocorrência do estro após a retirada da esponja ou do dispositivo intravaginal é variável, provavelmente, devido à presença do corpo lúteo após o término do tratamento.

Assim, os esquemas de indução/sincronização de cio com progestágenos utilizados atualmente consistem na redução do período de permanência da esponja e na administração de PGF2 α , 48 horas antes do término do tratamento, a fim de provocar luteólise nos casos de animais que permanecem com um corpo lúteo funcional. Além disso, sugere-se a administração de eCG no mesmo período, para estimular o crescimento folicular.

¹ CIDR[®]: Pfizer Saúde Animal

Maffili (2004) observou que 88,9% das cabras manifestaram estro sincronizado, após tratamento por cinco dias utilizando esponjas intravaginais ou CIDR[®], associados com 50µg de prostaglandina (PGF2α) no momento da inserção do implante.

Adicionalmente, Corteel et al. (1988) constataram que a aplicação de eCG, 48 horas antes da remoção da esponja, quando comparada à aplicação no dia da remoção, eleva as taxas de concepção de 48% para 53%.

Independentemente da duração do tratamento com progestágenos, verificou-se que o uso de eCG também está associado à baixas taxas de concepção. Anticorpos anti-eCG aumentam com o número de tratamentos anteriores aos quais o animal foi submetido e, conseqüentemente, há aumento da frequência de estros tardios (> 30 horas após a remoção da esponja). A taxa de concepção observada em cabras que manifestaram estro com mais de 30 horas, após a remoção da esponja, foi de 33,3%, enquanto que, para cabras que manifestaram cio mais precocemente, a taxa de concepção foi de 65% (Baril et al., 1993).

A capacidade imunogênica do eCG é atribuída à sua origem glicoprotéica, ao alto peso molecular e alto grau de glicosilação. Além disso, seu alto teor de ácido siálico é responsável por sua longa meia vida na corrente sanguínea, fazendo com que os folículos continuem a crescer, mesmo após o fim do tratamento, aumentando assim a concentração de estradiol e favorecendo a regressão luteal precoce (Saharrea et al., 1998).

Drion et al. (2002) demonstraram que anticorpos anti-eCG atrasaram significativamente o início do pico de LH, com redução na percentagem de fêmeas que ovularam. Contudo, em alguns animais tratados com eCG pela primeira vez, uma grande variação

no tempo de início do estro também foi observada (Baril et al., 1993), sugerindo que outros fatores, além da presença de anticorpos anti-eCG, possam estar relacionados com a resposta aos tratamentos de sincronização (Freitas et al., 1997).

2.3.2 - Prostaglandinas

A luteólise na espécie caprina ocorre por volta dos dias 16 e 18 do ciclo estral. Com o objetivo de reduzir a duração da fase luteal e, conseqüentemente, o tempo de ocorrência do estro, utilizam-se prostaglandinas, ou seus análogos, para a sincronização do estro em cabras.

A utilização de prostaglandina proporciona alta manifestação de estro nos animais tratados, porém de forma assíncrona, o que inviabiliza sua utilização em programas de inseminação artificial em tempo fixo (Menchaca e Rubianes, 2004).

A presença de um corpo lúteo funcional é necessária para que haja resposta a prostaglandina. Dessa forma, o tratamento só é eficiente em animais que estejam ciclando.

Quando se administra PGF2α, os animais podem apresentar estro em um intervalo de seis a 96 horas. A variabilidade de resposta à PGF2α pode ser atribuída à diferença na condição ovariana entre cabras quando do início do tratamento. O dia do ciclo no qual a PGF2α é administrada influencia o intervalo da aplicação ao início do estro. Dessa forma, se o tratamento é realizado durante o início do ciclo estral, o intervalo entre a aplicação da PGF2α e início do estro e o momento da ovulação são mais curtos que aqueles observados quando o tratamento é realizado ao final do ciclo estral (Mongo, 1987; Menchaca e Rubianes, 2004).

Neste sentido, Nuti et al. (1992) observaram intervalos médios entre a aplicação de

PGF2 α e início do cio de $46 \pm 3,9$ horas e $48 \pm 1,7$ horas ($P < 0,05$) para aplicações nos dias 6 e 12 do ciclo estral, respectivamente.

A presença de um corpo lúteo funcional, no momento da aplicação de PGF2 α , também pode influenciar na resposta ao tratamento com prostaglandina. Em ovelhas, o corpo lúteo é responsivo à PGF2 α e seus análogos, nos dias 4 a 15 do ciclo estral (Acritopoulou e Haresing, 1980). Entretanto, Gordon et al. (2000) verificaram 60% de atividade de produção de mRNA, para formação de receptores de PGF2 α , em corpos lúteos de ovinos, já no segundo dia de sua formação. Em estudo recente, Rubianes et al. (2003) demonstraram que a refratariedade do corpo lúteo está restrita aos dois primeiros dias após a ovulação.

Em vacas, o corpo lúteo é refratário à ação da prostaglandina durante os cinco primeiros dias do ciclo estral. No entanto, entre os dias cinco e nove do ciclo, a PGF2 α pode causar uma luteólise parcial, com subsequente restabelecimento da função do corpo lúteo (Wiltbank et al., 1995).

Segundo Ott et al. (1980b) a sensibilidade do corpo lúteo, na espécie caprina, é observada a partir do quarto dia do ciclo estral. No entanto, Proserpi (2004) verificou que 69,23% das cabras estudadas manifestaram estro após a aplicação de prostaglandina, no terceiro dia do ciclo estral.

Aquelas cabras que não respondem à aplicação de PGF2 α com luteólise completa exibem declínio transitório da concentração de progesterona periférica. De acordo com Bretzlaff et al. (1982), a habilidade do corpo lúteo em produzir progesterona é reduzida, temporariamente, quando os tratamentos são realizados com baixas doses de PGF2 α .

Adicionalmente, a variabilidade na resposta aos tratamentos com PGF2 α também pode estar relacionada à condição folicular de

cada animal, no momento da administração da PGF2 α . Se um folículo grande, em crescimento, está presente no momento do tratamento, o mesmo continuará seu desenvolvimento, com o estro e ovulação ocorrendo em curto período de tempo, após administração da PGF2 α . Contudo, se a luteólise for induzida quando o maior folículo da onda estiver em regressão, um novo folículo precisa emergir e crescer. Neste caso, o estro e ovulação podem ocorrer mais tarde (Menchaca e Rubianes, 2004).

A fim de contornar estes problemas e melhorar a sincronização do estro, utilizam-se duas aplicações de prostaglandina, ou seus análogos, intervaladas de 9 a 12 dias. A primeira aplicação de PGF2 α induz a luteólise somente naqueles animais com corpo lúteo funcional. Na segunda aplicação, a grande maioria, ou a totalidade dos animais, apresenta um corpo lúteo funcional (Ott et al., 1980b).

Ott et al. (1980a) utilizando um protocolo envolvendo duas doses de PGF2 α , intervaladas de 11 dias, observaram que 70,6% dos animais manifestaram estro num período de 54 ± 3 horas após a aplicação da primeira dose de prostaglandina. Além disso, 94% dos animais manifestaram estro 52 ± 3 horas após a segunda aplicação.

Estes resultados são semelhantes aos observados pelos mesmos pesquisadores, em outro estudo, no qual 87% das cabras entraram em cio 53 ± 2 horas após a primeira aplicação de PGF2 α . Após aplicação da segunda dose de PGF2 α , 11 dias após a primeira, 100% dos animais manifestaram estro, num período de 50 ± 1 hora (Ott et al., 1980b).

Da mesma forma, Beck et al. (1993) compararam o tratamento com uma e duas aplicações de cloprostenol (125 μ g), a intervalos de 11 dias, e observaram

manifestação de estro em 100% das ovelhas após a segunda aplicação.

Goel e Agrawal (1998) observaram $71,3 \pm 5,7$ e $65,3 \pm 4,2$ horas de intervalo entre a primeira e segunda aplicação de PGF2 α e o início do cio, em cabras da raça Jakhrana e SRD, respectivamente.

Fonseca (2002) observou uma manifestação de estro de 73,7% e 89,5% após aplicação da primeira e segunda dose de prostaglandina, respectivamente, com intervalo de 10 dias entre as aplicações. Não houve diferença ($P > 0,05$) nos intervalos entre a aplicação da PGF2 α e o início do cio entre a primeira e a segunda aplicação da PGF2 α ($44,5 \pm 15,9$ vs $49,9 \pm 11,9$ horas, respectivamente).

Mongo (1987) observou manifestação do estro em 100% dos animais, após a segunda dose de prostaglandina (intervalo de 11 dias), em um período de até 68 horas.

Bretzlaff et al. (1982), utilizando apenas uma aplicação de prostaglandina, observaram 100% de manifestação de estro, em um período de até 96 horas. Neste caso, a aplicação da prostaglandina em um período pré-determinado do ciclo estral (10 dias após o estro), respondeu pela alta eficiência de sincronização dos animais tratados.

Por outro lado, Costa et al. (1982), observaram que somente 26,67% das cabras manifestaram estro após uma única aplicação de PGF2 α , em um período desconhecido do ciclo estral. O intervalo médio da aplicação da droga ao início do estro observado foi de 58,15 horas.

Além disso, Mellado et al. (1994) administraram prostaglandina (dinoprost) em diferentes doses (6, 4, 2, 1,5, 1 e 0,5mg) por via intramuscular (IM) e submucosa vulvar (SMV) e verificaram estar o intervalo do tratamento ao início do estro diretamente

relacionado à via de administração, não à dose. Portanto, quando a PGF2 α é aplicada por via intramuscular, o tempo para o surgimento do estro é maior. Sendo assim, para uma mesma dose (6mg), 35% das cabras manifestaram estro dentro de 48 horas (IM) e 36%, com 24 horas (SMV).

Em novilhas, Alvarez et al. (1991) não encontraram diferenças no intervalo do tratamento (PGF2 α administrada via IM ou SMV) ao início do estro, embora as novilhas que receberam PGF2 α por via intramuscular apresentaram estro 13,5 horas mais tarde que as tratadas por via submucosa vulvar.

Em cabras, Mongo (1987 e 1988) sincronizou 100% dos animais com um quarto da dose recomendada (62,5 μ g de cloprostenol) quando aplicada na submucosa vulvar. Fonseca (2002) sincronizou 89,5% dos animais, utilizando uma dose de 22,5 μ g de cloprostenol, administrada na submucosa vulvar.

A administração por via submucosa vulvar faz com que a prostaglandina alcance o ovário mais rapidamente, reduzindo a taxa de metabolização sistêmica (Mongo, 1987; Mellado et al., 1994). Assim, a luteólise ocorre mais rapidamente e os animais entram em estro em um curto período após o tratamento.

2.4 - Preservação e tipo de sêmen utilizado na inseminação artificial de caprinos

A utilização do sêmen a fresco diluído proporciona a manutenção das características físicas e morfológicas espermáticas, porém, dentro de um curto período de tempo. Desta forma, o seu uso fica restrito à propriedade onde o macho se encontra alojado ou a locais muito próximos (Ritar, 1993).

Paulenz et al. (2005) ao trabalharem com sêmen à temperatura de 20°C e utilização

após nove horas de armazenamento, obtiveram 78% e 74,3% de taxa de concepção, com inseminação cervical e vaginal, respectivamente. Em outro estudo, “in vitro”, os mesmos pesquisadores observaram haver redução da viabilidade espermática somente após 12 horas de armazenamento do sêmen a 20°C, em meio diluidor à base de leite desnatado (Paulenz et al., 2003, citados por Paulenz et al., 2005).

Prasad (1981), também utilizando sêmen a fresco, imediatamente após a coleta, obteve 92% de taxa de concepção. Ritar e Salamon (1983), por sua vez, obtiveram 65,6% de taxa de não retorno para o sêmen a fresco e 46,7% para o sêmen congelado.

Por outro lado, a utilização do sêmen congelado permite a conservação do material genético de um reprodutor por muitos anos, além de possibilitar o seu transporte para locais distantes.

Entretanto, a estocagem do sêmen, principalmente na forma congelada, causa mudanças ultraestruturais, bioquímicas e funcionais nas células espermáticas resultando, inevitavelmente, na redução da motilidade e no número de espermatozoides viáveis após o descongelamento, com prejuízo no transporte espermático no trato reprodutivo da fêmea e, conseqüentemente, na fertilidade (Leboeuf et al., 2000). Dessa forma, Karatzas et al. (1997), obtiveram taxa de concepção de 65,5% para o sêmen resfriado a 16°C, contra 53,4% para o sêmen congelado.

Singh e Purbey (1996) também observaram superioridade do sêmen resfriado a 5°C, em relação ao congelado, quanto à manutenção das características espermáticas “in vitro”. Sendo assim, a motilidade espermática observada, pós-descongelamento, foi de 52,96%, enquanto que para o sêmen resfriado a motilidade foi de 74,52%. A integridade acrossomal observada foi de

68,9% e 82,24% para o sêmen congelado e resfriado, respectivamente.

Melhores resultados, associados à utilização do sêmen congelado, foram obtidos por Corteel et al. (1970), citados por Machado e Simplício (1995), com taxa de concepção de 66%. Porém, na mesma época, índices melhores (75% de concepção) foram obtidos por Gonzáles-Stagnaro (1974) com o uso de sêmen resfriado.

Dessa forma, a utilização do sêmen resfriado proporciona maior viabilidade espermática quando comparado ao congelado, além de facilitar o transporte do material genético entre propriedades, sendo, neste caso, uma alternativa à importação de sêmen congelado.

A literatura a respeito da viabilidade do sêmen caprino resfriado e armazenado é escassa. Assim, pesquisas sobre o assunto têm recebido pouca atenção nos últimos anos. Porém, Salamon e colaboradores (1979) obtiveram taxa de concepção, em ovelhas, acima de 95% com sêmen armazenado a 5°C, por até quatro dias. O declínio significativo da taxa de concepção ocorreu somente após dez dias de estocagem.

Lynset et al. (1965) citados por Ritar (1993) observaram que a taxa de fertilidade após IA com sêmen caprino resfriado, armazenado por 12 horas, foi similar à inseminação com sêmen a fresco. Em ovinos, Colas e Guerin (1980), obtiveram 51% de fertilidade utilizando o sêmen 24 horas após o resfriamento.

Para Machado e Simplício (1995) a taxa de resfriamento do sêmen caprino deve estar compreendida entre 0,25 e 0,35°C/min., até que a temperatura final de 5°C seja atingida. Neste caso, a motilidade espermática é mantida, a baixos níveis, por alguns dias.

Admite-se que a fertilidade do sêmen torna-se comprometida quando este apresenta menos de 30% de espermatozoides vivos e 2,5 de motilidade individual progressiva, em escala de 0-5 (Nunes e Feliciano Silva, 1984).

A avaliação “in vitro” do sêmen resfriado a 4°C realizada por Nunes e Feliciano Silva (1984) evidenciou que, no terceiro dia de armazenamento, a porcentagem de espermatozoides vivos encontrava-se no limite mínimo de sua utilização (30% motilidade). Porém, com relação às alterações morfológicas, nas primeiras 24 horas de armazenamento encontravam-se no limite máximo para a utilização do sêmen, que é de 15%.

2.5 - Fatores a serem considerados no processo de inseminação artificial de caprinos e capazes de influenciar a fertilidade

2.5.1 - Fatores inerentes ao reprodutor e ao sêmen

2.5.1.1 - Influência da estação do ano

Corteel (1976) observou redução de até 15,4% na taxa de concepção utilizando sêmen resfriado a 4°C, quando coletado fora da estação reprodutiva, em relação ao sêmen congelado, coletado no período de estação reprodutiva. A redução na concepção observada com o sêmen resfriado foi atribuída, por este autor, à redução gradativa da motilidade espermática fora da estação reprodutiva.

No entanto, Zygiannidis et al. (1989) obtiveram taxa de concepção de 72,7%, com sêmen resfriado, coletado fora do período reprodutivo. Além disso, Roca et al. (1997) não observaram diferença na taxa de concepção utilizando sêmen coletado na estação (75%) ou fora da estação reprodutiva (73%).

Karatzas et al. (1997) obtiveram uma taxa de concepção significativamente maior (65,5%) com o sêmen resfriado a 16°C por seis horas, coletado fora do período reprodutivo, em relação à obtida com o sêmen congelado (53,4%), coletado de machos durante a estação reprodutiva.

Portanto, não só a época de coleta do sêmen, como também a temperatura de condicionamento, são responsáveis pela variabilidade na taxa de fertilidade.

Além disso, o número de inseminações artificiais e a raça também influenciam na taxa de concepção. Assim, Karatzas et al. (1997) obtiveram 70,4% e 48,9% de concepção utilizando sêmen resfriado após uma ou duas inseminações, realizadas a 50-55 ou as 36 e 60 horas após a remoção da esponja, respectivamente. A taxa de concepção, utilizando sêmen resfriado, foi maior para machos da raça Damascus (64%), que para animais da raça Alpina (59,3%) ou Saanen (56%).

2.5.1.2 - Produção espermática

O início da atividade sexual nos machos caprinos ocorre em diferentes idades conforme a raça, estado nutricional, influência social, dentre outros fatores. Geralmente, a puberdade tem início entre cinco e nove meses de idade.

A produção espermática diária em caprinos pode variar de 2,76 a $7,23 \times 10^9$ espermatozoides (Leboeuf et al., 2000), em um volume médio de 0,8 ml por ejaculado. Os padrões seminais desejáveis para a seleção de reprodutores para inseminação artificial são: motilidade mínima de 70%, vigor e turbilhonamento igual ou superior a 3, em uma escala de 0 a 5, e máximo de 20% de patologias espermáticas.

A produção potencial de doses inseminantes por ejaculado, para o uso do sêmen a fresco, varia de 4,1 a 9,4, para bodes não

selecionados e selecionados, respectivamente (Corteel et al., 1987, citado por Machado e Simplício, 1995). A utilização do sêmen diluído resfriado aumenta para até 40 o número potencial de cabras inseminadas (Gordon, 1997).

A sazonalidade, o manejo dos animais pré-púberes e a frequência e método de coleta podem responder pela variabilidade das características físicas e morfológicas do sêmen. Além disso, as variações de temperatura, pluviosidade, umidade relativa do ar e insolação refletem não só diretamente nos animais como também no ambiente, alterando a qualidade do aporte nutritivo-alimentar dos caprinos, modificando a homeostase corporal e a espermatogênese (Machado e Simplício, 1995).

A duração da estação reprodutiva varia de forma inversa à latitude, sendo que animais alojados em médias a altas latitudes apresentam marcada sazonalidade. Nestes animais, os períodos de alta luminosidade correspondem à redução do volume e aumento relativo da concentração espermática. Isto porque a concentração de testosterona é menor fora da estação reprodutiva, refletindo em baixa produção e secreção das glândulas sexuais acessórias, além de baixa libido, responsável pela maior dificuldade de coleta nesta época. A qualidade espermática também diminui fora da estação reprodutiva, observando-se redução da motilidade e aumento das patologias espermáticas. Apesar desta variabilidade, animais bem nutridos podem ser submetidos à coleta de sêmen durante todo o ano (Ritar, 1993).

De acordo com Orgeur et al. (1990), a manutenção de machos em grupos do mesmo sexo, antes da puberdade, também contribui para diminuir a produção e a qualidade seminal.

2.5.1.3 - Efeito do tipo de coleta do sêmen

Durante a estação reprodutiva, o aumento no número de coletas por semana pode aumentar em até três vezes o número de espermatozoides produzidos. Contudo, é também importante respeitar o período de descanso entre coletas, de dois dias, para que ocorra o restabelecimento da produção espermática. Podem-se também realizar duas coletas em um mesmo dia, com intervalo de cinco minutos entre elas (Ritar et al., 1992).

A utilização do eletroejaculador resulta em ejaculados com maior volume e menor concentração espermática, em relação aos obtidos com vagina artificial. Como o plasma seminal parece ser responsável por efeitos deletérios durante a estocagem do sêmen, a eletroejaculação não parece ser o método de escolha para a coleta de sêmen em caprinos (Memon et al., 1986).

O período de tempo entre a visualização da fêmea pelo macho e a ejaculação é denominado como tempo de reação, e varia de acordo com a raça, libido, época do ano e temperatura ambiente, dentre outros fatores. Sendo assim, o tempo de reação observado em três machos avaliados foi de 62,6, 151,4 e 159,4 segundos (Sharma et al., 1957, citados por Corteel, 1981).

Ritar et al. (1992) utilizando machos da raça Angorá em um esquema de coletas consecutivas, não observaram diferença no tempo de reação do dia um ao dia cinco de coleta, com média total de 209 ± 20 segundos. Estes pesquisadores observaram ainda que a coleta pode ser realizada com uma frequência máxima de quatro a cinco vezes por dia, durante cinco dias, mas que alguns machos podem não ejacular nos últimos dias de coleta. Dessa forma, preconizaram um período de descanso de um a dois dias entre regimes intensivos de coletas, a fim de permitir o restabelecimento espermático completo.

O número de espermatozóides na primeira coleta representa cerca de 40% das reservas mantidas na cauda do epidídimo ($14,37 \pm 0,27 \times 10^9$). Durante os cinco dias subsequentes, cerca de 40 bilhões de espermatozóides podem ser coletados de cada reprodutor, sugerindo depleção de 86% das reservas epididimárias. Evidências indicam que em outras espécies há também um residual de 20% ou mais na reserva epididimária após coletas frequentes (bovinos: Almquist e Amann, 1961; ovinos: Salamon, 1964).

2.5.1.4 - Bioquímica do sêmen caprino

O sêmen caprino apresenta particularidades que o diferencia do de outras espécies, sendo dentre elas, a mais importante, a síntese e secreção de enzimas pelas glândulas bulbo uretrais liberadas no plasma seminal (Simplício e Machado, 1989). Segundo Iritani e Nishikawa (1961), estas enzimas possuem atividade fosfolipase.

Dessa forma, na preservação do sêmen caprino observa-se que o plasma seminal exerce efeito deletério sobre a viabilidade dos espermatozóides quando se utilizam diluidores contendo gema de ovo ou leite.

O problema relacionado aos diluentes à base de gema de ovo é atribuído a uma enzima oriunda da secreção da glândula bulbo uretral (BUS- *bulbo uretral gland secretion*) no plasma seminal, denominada *egg yolk coagulating enzyme* (EYCE). Esta enzima hidrolisa a lecitina presente na gema de ovo em lisolecitinas e ácidos graxos altamente tóxicos para os espermatozóides (Corteel, 1981).

No caso dos diluidores à base de leite, uma fração protéica, também oriunda da glândula bulbo uretral, denominada BUSgp60, hidrolisa os triglicerídeos do leite, resultando na produção de ácidos graxos tóxicos aos espermatozóides de caprinos, como o ácido oléico, capazes de inibir sua

motilidade (Corteel et al., 1984; Leboeuf et al., 2000). O efeito BUSgp60 pode ser direto sobre os fosfolípidos da membrana dos espermatozóides ou indireto, pela produção de derivados tóxicos dos lípidos do leite.

De acordo com Corteel e colaboradores (1984), a maior parte das frações da proteína secretada pela bulbo uretral é responsável pela diminuição da motilidade e da sobrevivência espermáticas. Porém, a terceira fração (BUS III) parece ser a mais deletéria. Quando se adiciona a BUS III em diluidores a base de leite, a motilidade cai de 80% para 20%, enquanto que, ao ser adicionada à diluidores salinos, a queda na motilidade não é tão severa (60% para 50%).

Estudos sugerem que a EYCE e a BUSgp60 podem ser substâncias semelhantes, possivelmente, pertencentes a uma mesma família (Iritani e Nishikawa, 1963, citados por Leboeuf et al., 2000).

Atreja e Anand (1985) demonstraram, como produtos de hidrólise da fosfolipase, o glicerilfosfatidil etanolamina e glicerilfosfatidil colina, sugerindo a presença de duas enzimas, a fosfolipase A1 e A2, ou pelo menos uma das duas. A produção de lisofosfatidil etanolamina e de lisofosfatidil colina comprovou a presença de lisofosfolipase.

Sendo a lecitina o fosfolípide mais abundante nas membranas plasmáticas dos espermatozóides e também presente na gema de ovo, a composição enzimática do sêmen do bode e dos diluidores assume grande importância no processo de conservação do sêmen, congelado ou resfriado (Simplício e Machado, 1989).

Scott e Dawson (1968) estudando, em ovinos e bovinos, a atividade da fosfolipase e da lisofosfolipase em sêmen total, lavado e em secreções das glândulas acessórias livres

de espermatozoides e, Atreja e Anand (1985), em espermatozoides epididimários de caprinos, observaram hidrólises máximas entre pH neutro e alcalino (7-9) e temperatura de 37°C.

De acordo com Chauhan e Anand (1990) a atividade fosfolipase no sêmen de caprino, diminui na proporção de 1:10 no sêmen fresco, para 1:1,5 após a diluição, provavelmente, devido à alta instabilidade da enzima lisofosfolipase ou a sua inibição após a diluição.

Também se observou que quando um quarto do diluidor à base de leite é substituído por um tampão fosfato, a motilidade observada após o descongelamento foi maior quando comparada ao sêmen congelado em meio à base de leite, sem substituição (Corteel et al., 1984).

Da mesma forma, Ritar e Salamon (1982) recomendaram a lavagem do sêmen, através da centrifugação (sete minutos a 500 XG), para a eliminação do plasma seminal, ou o uso de uma concentração de 1,5% de gema de ovo no diluidor, sem prejuízo à célula espermática.

2.5.1.5 - Influência do plasma seminal e da centrifugação do sêmen

A presença de enzimas no plasma seminal de caprinos, como mencionado anteriormente, é desfavorável à sua conservação, tanto na forma resfriada como na congelada. Assim, a remoção do plasma seminal por centrifugação do sêmen mostrou-se benéfica, resultando em maior sobrevivência espermática pós-descongelamento (Tuli e Holtz, 1994; Machado e Simplício, 1995).

A ação negativa exercida pelas fosfolipases, presentes no plasma seminal, persiste mesmo em temperaturas de resfriamento ou congelamento. Assim, segundo Corteel (1974), observa-se redução do número de espermatozoides vivos diretamente propor-

cional ao tempo de armazenamento, quando se utiliza sêmen total.

Memon et al. (1985) demonstraram efeito positivo significativo da lavagem do sêmen, por centrifugação, sobre a motilidade espermática pós-descongelamento. Entretanto, não observaram efeito significativo dos diferentes diluidores utilizados (à base de leite ou gema de ovo).

A remoção do plasma seminal pela lavagem do sêmen, antes do congelamento, mostrou ser benéfica à sobrevivência das células espermáticas pós-descongelamento em vários trabalhos (Corteel 1974; Ritar e Salamon, 1982). No entanto, os resultados "in vivo" apresentados por Ritar e Salamon (1983) mostram não haver diferença na taxa de parto, para espermatozoides lavados duas vezes (62%) ou não lavados (52%).

Da mesma forma, Dunner (1993) observou que amostras de sêmen total e lavado, quando apenas resfriadas, não apresentaram diferenças significativas quanto à motilidade espermática progressiva. Contudo, o procedimento de congelamento, na presença do plasma seminal, teve influência negativa sobre a motilidade espermática.

Por outro lado, Tuli e Holtz (1994) afirmam que a redução da motilidade progressiva e do número de espermatozoides vivos, observada após o congelamento do sêmen em meio contendo gema de ovo, é menor no sêmen total que no lavado. Estes pesquisadores atribuem a queda da motilidade espermática progressiva e da percentagem de espermatozoides vivos, após remoção do plasma seminal, à eliminação da frutose e de outras substâncias presentes no mesmo.

Roca et al. (1997) utilizaram o sêmen diluído em extensor à base de gema de ovo (2%) e não observaram diferenças nas taxas de concepção quando os espermatozoides foram previamente lavados (70,3%) ou não (73,5%).

Ritar e Salamon (1982) examinaram os efeitos do plasma seminal, dos métodos de lavagem dos espermatozóides e da presença da gema de ovo no diluidor Tris sobre a sobrevivência dos espermatozóides caprinos e ovinos, resfriados e congelados. O plasma seminal de caprinos mostrou ser mais deletério que o plasma de ovinos sobre a motilidade espermática de ambas as espécies.

Quando a gema de ovo foi incluída no meio diluidor, na presença de plasma seminal caprino, os espermatozóides sobreviveram por até duas horas, incubados a 37°C. Os pesquisadores observaram que, em temperatura ótima (37-40°C), uma concentração de somente 4% de plasma seminal, em meio diluidor contendo gema de ovo, causa coagulação (Ritar e Salamon, 1982).

A motilidade é maior no sêmen resfriado que no congelado, lavado ou não. Porém, o declínio na motilidade, após incubação a 37°C, é maior quando o sêmen é resfriado e não lavado (de 77% para 1,3%, após seis horas de incubação). O sêmen congelado respondeu melhor à incubação, principalmente quando submetido a duas lavagens (39,1% para 20,2% com uma lavagem; e de 39,9% para 34,5% com duas lavagens) (Ritar e Salamon, 1982).

A taxa de sobrevivência espermática é maior para o sêmen lavado que para o não lavado. Porém, para Ritar e Salamon (1982) o efeito benéfico da lavagem do sêmen pela centrifugação depende do número de lavagens e da taxa de diluição. A viabilidade dos espermatozóides na presença da gema de ovo foi prolongada quando a taxa de diluição foi maior (1:10). Além disso, uma melhor taxa de motilidade, após seis horas de incubação a 37°C, foi obtida após duas lavagens com taxa de diluição de 1:10.

Concentrações de 1,5 a 12 % de gema de ovo foram acompanhadas por respostas

similares, quanto à taxa de sobrevivência espermática, quando o sêmen foi diluído a 1:20, com uma única lavagem, ou 1:10 após duas lavagens. Por outro lado, em sêmen não lavado, uma concentração de 1,5% de gema de ovo no meio diluidor não causa efeitos deletérios sobre a motilidade espermática, mesmo para os animais mais sensíveis à gema de ovo (Ritar e Salamon, 1982, 1991).

2.5.1.6 - Diluidores do sêmen

Vários extensores têm sido testados para a conservação do sêmen caprino, sendo observados resultados bastante variáveis quanto à viabilidade espermática. Entre os existentes, podem ser citados aqueles à base de gema de ovo, em concentrações que variam de 20 a 1,5%, à base de leite em pó desnatado com adição de glicose, Tris, Água de coco, Citrato de sódio e Lactose, dentre outros.

No entanto, Dautier (1956) e Roy (1957), citados por Simplício e Machado (1989), desaconselham empregar diluidores contendo gema de ovo em sua composição, exceto quando se remove o plasma seminal.

Da mesma forma, Memon et al. (1985) reportaram drástica deterioração da viabilidade espermática pós-descongelamento, quando espermatozóides não lavados foram diluídos em meio contendo 11% de gema de ovo.

Por outro lado, Chauhan e Anand (1990) demonstraram que o sêmen caprino não lavado pode ser preservado em meio contendo altas concentrações de gema de ovo, a baixas temperaturas.

Singh e Purbey (1996) avaliaram a viabilidade espermática "in vitro", após 24 horas de resfriamento a 5°C, em meio diluidor Tris e Citrato, ambos com 20% de gema. Neste estudo, observaram superioridade do diluidor Tris sobre o Citrato, no que

se refere à motilidade (74,52% para Tris e 66,58% para Citrato) e à integridade acrossomal (82,24% e 76,72% para Tris e Citrato, respectivamente).

Já Roca e colaboradores (1997) observaram que os espermatozoides foram preservados a 5°C, durante 6 a 36 horas, em meio diluidor contendo 2% de gema de ovo.

De acordo com Leboeuf et al. (2000), a maioria das pesquisas mostra viabilidade e fertilidade do sêmen não lavado e resfriado por até 5-8 horas, sendo que períodos de armazenagem mais longos como 12-24 horas resultam em baixa taxa de fertilidade.

Por outro lado, Eppleston et al. (1994) citados por Leboeuf et al. (2000) relatam a manutenção da capacidade fecundante dos espermatozoides por oito dias, quando armazenados a 5°C, em diluidor Tris-frutose-gema (2% de gema). Pomares et al. (1994) citados por Leboeuf et al. (2000) relataram um período maior de sobrevivência espermática (12 dias), a 5°C, ao incorporarem antioxidantes ao meio diluidor.

As diferenças observadas quando da utilização de diluidores contendo gema de ovo se devem à variação sazonal e individual na concentração da enzima coaguladora da gema de ovo no plasma seminal (Corteel, 1973 e Roca et al., 1997) e, à variação na composição da gema de ovo, dependendo da linhagem da ave (Corteel, 1973).

Dessa forma, Dauzier (1956) e Roy (1957), citados por Simplício e Machado (1989), defendem que o leite de vaca desnatado em pó, reconstituído a 10% e acrescido de glicose e antibiótico, ainda é o melhor diluidor para o sêmen caprino.

Leboeuf et al. (2003) também observaram que o meio diluidor à base de leite foi mais eficiente para a preservação do sêmen a 4°C

que a 15°C, com manutenção da motilidade espermática por até quatro dias. Além disso, a presença ou ausência do plasma seminal não influenciou a motilidade espermática dos espermatozoides armazenados a 4°C.

Borghain et al. (1985), ao utilizarem sêmen resfriado a 5°C, observaram que a motilidade diminuiu significativamente com o tempo de armazenamento e com o diluidor utilizado. Assim, motilidade média de 60% foi observada às 48 horas de armazenamento em diluidor à base de leite, enquanto que, neste mesmo período, a motilidade média, em diluidor gema era de 50%. Apesar da taxa de concepção para o sêmen diluído em leite (64,15%) não ter diferido da do sêmen diluído em gema (61,11%), os pesquisadores observaram que o diluidor à base de leite preservava o sêmen por um maior período de tempo.

Já Ritar e Salamon (1982, 1991) observaram que a concentração de 1,5% de gema de ovo não interferiu na viabilidade dos espermatozoides não lavados e coletados fora da estação reprodutiva.

Mas, Paulenz et al. (2005) observaram que os diluidores a base de leite preservam melhor a motilidade e a integridade acrossômica dos espermatozoides por até 28 horas de armazenamento, a 20°C. Porém, o armazenamento a 5°C foi melhor que a 20°C, no que diz respeito à viabilidade espermática. Além disso, com diluidor salino (BTS), às três horas de preservação a 20°C, já não havia mais espermatozoides móveis.

Por outro lado, Deka e Rao (1987) avaliando “in vitro” os diluidores Tris-gema, Leite, Frutose e Rafinose, relataram 67, 63,5, 47,5, e 48% de motilidade pós-descongelamento. A menor porcentagem de danos acrossomais foi observada no diluidor Tris-gema (12,35%), comprovando a superioridade deste diluidor sobre os demais na preservação do sêmen caprino congelado.

O ácido 3-indol acético, uma fração da água de coco pertencente ao grupo das auxinas, que possui atividade hormonal estimuladora do crescimento de vegetais, mostra atividade sobre o metabolismo dos espermatozoides. O isolamento dessa substância abriu uma perspectiva de prolongamento da capacidade fecundante dos espermatozoides conservados sob refrigeração, por um período superior a 24 horas (Nunes, 1993).

A adição do ácido 3-indol acético, no diluidor à base de leite desnatado evidenciou sua superioridade em relação aos diluidores de leite desnatado e água de coco. Neste estudo, observou-se motilidades de 48,0, 27,1 e 30,1%, após 48 horas de armazenamento a 4°C, para os diluidores leite desnatado adicionado de ácido 3-indol acético, leite desnatado e água de coco, respectivamente (Azevedo e Toniolli, 2000).

Azawi et al. (1993) avaliaram seis diluidores diferentes (Citrato-gema, Frutose-fosfato-gema, Citrato-frutose-glicina-gema, Leite desnatado-gema, diluidor de Illinois e Tris-frutose-gema), por um período de até 120 horas a 4°C. Os melhores resultados foram obtidos com os diluidores Tris-frutose-gema e Illinois, com motilidades de 53,1 e 49,1% após 24 horas de armazenamento, e de 21,7 e 18,5%, após 120 horas de armazenamento, respectivamente.

2.5.1.7 - Taxa de diluição, concentração espermática e volume da dose inseminante

Tem sido demonstrada uma relação linear entre concentração espermática da dose inseminante e taxa de concepção (Salamon, 1962). A taxa concepção aumenta linearmente com o incremento do número de

espermatozoides, a partir de um valor mínimo.

Quando a fertilidade atinge um valor máximo, a curva que relaciona o número de espermatozoides com a taxa de concepção atinge um platô. A partir deste, não se consegue qualquer incremento na taxa de concepção, mesmo que se aumente o número de espermatozoides na dose inseminante.

Salamon (1962), considerando um intervalo de 28 a 128 milhões de espermatozoides por dose inseminante constatou que, a adição de cada 25 milhões de espermatozoides à mesma, aumentava a taxa de nascimento em 13%.

De acordo com Evans e Maxwell (1987) o local de deposição bem como a condição de conservação do sêmen influenciam a concentração necessária por dose inseminante (Tabela 2).

Assim, para inseminação vaginal, é recomendável utilizar apenas sêmen a fresco, com uma dose de 300×10^6 espermatozoides/ml. Para IA cervical, a concentração espermática varia de 100, 150 e 180×10^6 espermatozoides/ml, para o sêmen a fresco, resfriado e congelado, respectivamente. Finalmente, para IA intra-uterina, via cérvix, a concentração recomendada é de 60 milhões de espermatozoides, para qualquer tipo de sêmen utilizado (Evans e Maxwell, 1987).

Além disso, o volume da dose também depende do local de deposição. Dessa forma, volumes de 0,50, 0,20 e 0,10 ml são utilizados para IA vaginal, cervical ou intra-uterina, respectivamente (Evans e Maxwell, 1987).

Tabela 2 - Volume de sêmen (ml) e número mínimo recomendado de espermatozoides (milhões) por dose inseminante em função do local de deposição e do tipo de sêmen utilizado (método de conservação)

Tipo de IA	Volume da dose inseminante	Nº de espermatozoides em relação ao tipo de sêmen utilizado		
		Fresco	Refrigerado	Congelado
Inseminação Vaginal	0,30-0,50 ml	300	Ineficiente	Ineficiente
Inseminação Cervical	0,05-0,20 ml	100	150	180
Inseminação intra-uterina via cérvix	0,10-0,20 ml	60	60	60
Inseminação intra-uterina por laparoscopia	0,05-0,10 ml por corno uterino	20	20	20

Adaptado de Maxwell e Evans, 1987.

Como a cérvix da cabra possui uma pequena capacidade volumétrica, necessita-se utilizar uma dose inseminante com volume reduzido, porém, contendo um mínimo de espermatozoides viáveis compatíveis com uma boa taxa de gestação (Simplício e Machado, 1989). Contudo, o elevado número de espermatozoides em reduzido volume diminui a relação sêmen:diluidor, o que pode afetar a sobrevivência espermática (Méndez et al., 1994).

Altas taxas metabólicas foram observadas em amostras com concentrações espermáticas muito baixas durante a criopreservação (Joshi et al., 1990, citados por Barbosa, 1999). Foram estimados a utilização da frutose e o acúmulo de ácido láctico no diluidor utilizado, sendo que amostras com 200×10^7 spz/dose consumiram menor taxa de frutose, quando comparadas às com concentração de 100×10^7 spz/dose, nas várias etapas da criopreservação (Joshi et al., 1990, citados por Barbosa, 1999).

Em uma baixa relação sêmen:diluidor, como de 1:1 ou 1:2, vários pesquisadores observaram uma menor motilidade pós-descongelamento, comparada à diluições de 1:10 (Memon e Ott, 1981; Méndez et al., 1994; Machado e Simplício, 1995). Vale salientar ainda que diluições de 1:3 ou 1:4 (sêmen:diluidor) apresentaram motilidade progressiva pós-descongelamento similar em palhetas de 0,25 ml, quando comparadas à

palhetas de 0,5 ml com taxa de diluição de 1:7 ou 1:8 (Barbosa, 1999).

Contudo, Méndez et al. (1994) observaram severa queda na taxa de concepção quando o sêmen de carneiro foi diluído em proporções superiores a 1:1. Além disso, enfatizaram que o efeito da diluição não pode ser separado da concentração da dose, que foi reduzida por aumento da taxa de diluição.

Resultados similares foram mencionados por Amir et al. (1973), quando se obteve decréscimo da taxa de concepção com diluições de 1:10, em comparação ao sêmen não diluído ou submetido à uma diluição de 1:1.

Sahni (1987) também relatou efeito depressivo de altas taxas de diluição para o sêmen caprino congelado. A concepção máxima foi atingida com a taxa de diluição de 1:10 (26,6%), quando comparada às obtidas com diluições de 1:20 (23,2%) ou 1:50 (19,6%), evidenciando a necessidade de um número mínimo de espermatozoides para que ocorra sucesso na fertilização.

Com relação à concentração espermática requerida para a inseminação laparoscópica, Ritar e Ball (1993) não observaram diferença, quanto à taxa de concepção, ao utilizarem um, cinco ou 25 milhões de espermatozoides móveis por dose inseminante.

De acordo com Amoah e Gelaye (1997) a dose efetiva para IA laparoscópica e cervical, com sêmen a fresco, é de 2×10^7 e 1×10^8 espermatozóides móveis, respectivamente.

Ritar e Salamon (1983) encontraram taxas de concepção similares para concentrações de 60×10^6 (53,8%) e 120×10^6 (54,8%) espermatozóides/dose, utilizando inseminações intra-uterinas.

Ritar (1993) sugeriu que um número ótimo de espermatozóides móveis, para sêmen resfriado ou congelado, deve ser de 120×10^6 /ml e que nenhum aumento no número de espermatozóides móveis resultou em melhoria da taxa de concepção.

De acordo com Corteel e Paquinon (1984) a transposição cervical não é necessária para que se obtenha taxas de gestação satisfatórias, uma vez que estes pesquisadores obtiveram uma taxa de concepção de 65,1% com inseminação cervical. Porém, a concentração da dose inseminante utilizada foi de 200×10^6 espermatozóides.

Segundo Gordon (1997) dose de um milhão de espermatozóides móveis pode ser utilizada para inseminação intra-uterina, com sêmen congelado e diluído a 1:2 até 1:23. Contudo, para inseminação cervical, necessita-se de uma menor taxa de diluição (1:2) para permitir uma dose suficientemente pequena, porém concentrada, de pelo menos 120 milhões de espermatozóides móveis.

De acordo com Stagnaro (1975), quando o número de espermatozóides viáveis por dose (sêmen congelado) é inferior a 65×10^6 , ocorre redução na taxa de gestação. Neste sentido, Fougner (1976) obteve taxa de concepção de 48% ao utilizar uma concentração de 50×10^6 espermatozóides por dose inseminante. Ainda, Nagase (1966),

inseminando cabras com uma dose de 1×10^9 sptz/ml, obteve taxa de concepção de 76%.

Dentro do mesmo contexto, Corteel et al. (1984), obtiveram taxa de concepção de 65,1%, utilizando uma concentração espermática de 200×10^6 /ml (com o mínimo de 30% de motilidade pós-descongelamento). Da mesma forma, Ali et al. (1994) obtiveram taxa de concepção de 68%, em ovelhas, utilizando uma concentração similar à do estudo anterior (200×10^6 sptz/0,5 ml), com uma motilidade mínima de 30% pós-descongelamento.

Estudo interessante foi realizado por Azevedo et al. (1995) - Tabela 3, envolvendo a concentração espermática/dose inseminante e seu efeito sobre a taxa de concepção. Neste sentido, estes pesquisadores observaram melhor concepção (87,5%), ao utilizarem uma concentração de 50×10^6 sptz/dose. Concentrações de 100×10^6 e 200×10^6 sptz/dose responderam por taxas de concepção de 83,3% e 42,9%, respectivamente. Vale salientar que o sêmen era congelado em palheta de 0,5 ml e utilizado quando de um mínimo de 30% de motilidade pós-descongelamento.

Tabela 3 - Dose inseminante e taxa de concepção de cabras inseminadas artificialmente, em estro natural

Dose inseminante		Concepção		Fonte
Volume (ml)	Nº de sptz ($\times 10^6$)	Nº	%	
0,30	50	903	48,0	Fougner, 1976
0,25	75	3240	63,4	
0,50	50	16	87,5	Azevedo et al., 1995
0,50	100	12	83,3	
0,50	200	14	42,9	
0,25	50	10	30,0	
0,25	100	12	16,7	
0,25	200	07	42,9	
0,2	725	147	81,4	Corteel, 1981
0,1	447	100	89,9	
0,05	203	106	92,4	
0,025	83	123	90,3	

Adaptado de Machado e Simplício, 1995.

Vários estudos envolvendo o efeito da concentração espermática/dose inseminante sobre a taxa de concepção têm apresentado

resultados bastante variáveis, possivelmente, devido às diferenças nos sistemas de preservação do sêmen e do local de inseminação, dentre outros fatores.

2.5.1.8 - Alterações espermáticas causadas pelo resfriamento

Uma série de alterações ocorridas durante o resfriamento do sêmen, de 20°C para 1°C, chamadas de choque térmico são responsáveis pela queda da produção de energia dos espermatozoides, redução da motilidade, aumento da permeabilidade da membrana plasmática, com perda de íons e de moléculas intracelulares, bem como aumento do número de espermatozoides com movimento circular.

A resistência ao choque térmico é maior naquelas espécies em que a relação colesterol:fosfolípido e o teor de ácidos graxos saturados na membrana plasmática é maior (Parks e Graham, 1992).

Quando presentes na membrana plasmática os fosfolípidos, cujas cadeias de ácidos graxos são polinsaturados, formam uma estrutura cônica, na qual a base é a extremidade hidrofóbica da molécula. Sob esta forma, estes fosfolípidos tendem a formar uma micela invertida, ou forma Hexagonal II, produzindo canais hidrofílicos por onde passam íons e pequenas moléculas (Amann e Pickett, 1987; Parks e Graham, 1992).

Por estarem localizados próximos às proteínas intrínsecas da membrana, estes fosfolípidos são impedidos fisicamente de se transformarem na forma Hexagonal II. Porém, durante o resfriamento, determinados segmentos da membrana sofrem transição da sua forma fluida para a forma cristalina e, conseqüentemente, as proteínas se movem para as regiões fluidas remanescentes, permitindo assim a formação da micela invertida (Parks e Graham, 1992).

Holt e North (1985, 1986), estudando o resfriamento do sêmen de ovinos, constataram queda na atividade enzimática da cálcio-ATPase da membrana plasmática, que se acentuava em temperaturas inferiores a 22°C, devido à transição térmica sofrida pelos fosfolípidos ao redor do sítio destas enzimas. A queda na atividade ATPase resulta em despolarização da membrana plasmática, com conseqüente abertura dos canais de cálcio. Uma grande quantidade deste elemento no interior da célula ativa as fosfolipases, que agem nos fosfolípidos da membrana, aumentando sua permeabilidade.

A adição de fosfolípidos e lipoproteínas ao diluidor têm efeito estabilizador sobre a membrana espermática (den Daas, 1992). A maioria dos diluidores tem em sua composição, gema de ovo ou leite como componente básico, uma vez que a proteção dos espermatozoides contra o choque térmico é favorecida pelas fosfatidilcolinas (lecitinas), pelas lipoproteínas da gema e pela caseína do leite.

Neste sentido, Jones e Martin (1973) observaram que o resfriamento do sêmen ovino a 5°C causou condensação e desintegração das mitocôndrias e lesões na membrana plasmática, com declínio significativo da motilidade de 24 (70%) para 72 horas (35%) de armazenamento. A inclusão de 3% de gema de ovo no diluidor reduziu significativamente os danos à membrana plasmática dos espermatozoides e aumentou a porcentagem de espermatozoides móveis (12 vs 70%).

2.5.1.9 - Efeito do tempo de armazenamento do sêmen sobre as características espermáticas e fertilidade

Resultados obtidos por Campos et al. (2003) demonstraram que o tempo de conservação afeta significativamente a motilidade individual progressiva e a porcentagem de espermatozoides móveis no sêmen resfriado a 4°C, diluído em extensor à base de água de

coco-gema. Além disso, até às 24 horas de armazenamento, os parâmetros apresentaram-se dentro do que se preconiza para a inseminação (3,32 de motilidade individual progressiva e 53,14% de espermatozóides móveis).

Alguns estudos demonstraram que a estocagem do sêmen resfriado, em diluidores à base de citrato-gema ou leite desnatado, não deve exceder oito horas. A partir deste momento, perde-se mais de 50% da motilidade (Sahni, 1987) e a capacidade fecundante do sêmen resfriado decresce geometricamente.

Entretanto, Nimbalkar et al. (1982) observaram viabilidade espermática por até quatro dias, em meio diluidor à base de citrato-gema, enriquecido com ácido acético e caprótico. Mathew et al. (1982) também mantiveram o sêmen caprino preservado por um longo período (10 dias) a 5°C, em meio Tris com 20 ou 25% de gema de ovo.

Roca et al. (1997) também observaram redução da motilidade e aumento do número de espermatozóides com patologias, proporcionais ao tempo de armazenagem do sêmen. Estas alterações foram significativas após 48 horas de armazenamento do sêmen resfriado a 5°C, em meio diluidor a base de gema de ovo.

Em estudo realizado por Shamsuddin et al. (2000), a motilidade espermática média variou de 30 a 78%, dependendo do diluidor e do tempo de preservação. O sêmen diluído em meio à base de leite apresentou motilidade espermática inferior ao diluído em meio à base de gema, sendo esta diferença significativa à partir do terceiro dia de estocagem a 4°C.

González-Stagnaro (1975) utilizou sêmen resfriado a 4-6°C por um período de 6-12 horas, alcançando 75% de fertilidade.

Nunes e Feliciano Silva (1984) recomendaram a utilização do sêmen resfriado a 4°C com até 10-12 horas de armazenamento, baseados na avaliação “in vitro” do sêmen.

A viabilidade do sêmen conservado a 15°C é menor do que a 5°C. Assim, é recomendável que o sêmen resfriado a 15°C seja utilizado, para inseminação cervical, em um período máximo de 6 a 12 horas de conservação, enquanto que o resfriamento a 5°C proporciona a utilização do sêmen, em ovinos, por um período de 24 horas (Evans e Maxwell, 1987). Por outro lado, a utilização da inseminação intra-uterina permite o uso do sêmen refrigerado a 5°C, por até seis dias de conservação (Evans e Maxwell, 1987).

Segundo Gonçalves et al. (2001) e Medeiros et al. (1994), o sêmen caprino conservado sob refrigeração a 4°C pode ser utilizado em um curto espaço de tempo, tendo uma viabilidade máxima de 48 horas.

2.5.2 - Fatores inerentes às fêmeas

2.5.2.1 - Efeito do local de deposição do sêmen sobre a fertilidade de cabras inseminadas

O local de deposição do sêmen tem importância relevante na taxa de concepção. Segundo Ritar et al. (1990a) a taxa de concepção está diretamente relacionada com a profundidade da inseminação, sendo os piores resultados obtidos quando a deposição é feita na vagina e, os melhores, quando a inseminação artificial é intra-uterina (Dauzier, 1956; Andersen, 1969; Corteel et al., 1970; Simplicio e Machado, 1989).

Salamon e Lightfoot (1967) citados por Mies Filho (1982) verificaram influência do sítio de deposição do sêmen sobre a taxa de gestação em ovinos, relatando 88% de concepção para inseminações intra-uterinas, 31% para inseminações cervicais profundas

e de 25% para inseminações cervicais superficiais.

Senger e Reeves (1988) também observaram relação entre o local de deposição do sêmen no trato genital da fêmea e a taxa de concepção, em vacas inseminadas. Segundo estes autores, a inseminação cervical reduz a fertilidade em bovinos.

Vallet et al. (1992) observaram taxa de concepção de 34,3% após inseminação cervical e de 44,3%, após inseminação intra-uterina. Já Amoah e Gelaye (1990) observaram taxa de concepção de 80% após inseminação intra-uterina por laparoscopia.

Azevedo et al. (1998) estudando o efeito do refluxo de sêmen, no momento da IA transcervical, sobre a taxa de concepção e prolificidade em cabras, demonstraram ser este fato observado, muitas vezes, pela dificuldade de passagem pelo canal cervical. Além disso, mencionaram ser inevitável, após o refluxo e perda de sêmen para a vagina, um decréscimo no número de espermatozoides disponíveis nos reservatórios espermáticos e, posteriormente, no sítio de fecundação.

A ocorrência de refluxo é influenciada pelo local de deposição do sêmen, sendo maior quanto mais superficial for a inseminação, ocorrendo assim, com maior frequência, em fêmeas nulíparas.

A facilidade de transposição cervical está relacionada a vários fatores, tais como: fase do ciclo estral em que a fêmea se encontra, à variação individual na anatomia cervical, à categoria reprodutiva, dentre outros, ocasionando dessa forma, a deposição do sêmen em diferentes partes do trato genital (Barbosa, 1999).

Azevedo et al. (1995) enfatizaram a dificuldade em realizarem-se deposições de sêmen em locais mais profundos da genitália de cabras nulíparas, com o método

transcervical. Entretanto, apesar das cabras pluríparas apresentarem maior facilidade na transposição cervical, não se observou diferenças em relação à taxa de gestação, entre nulíparas (31,65%) e pluríparas (32%) (Azevedo et al. 1997).

De acordo com Corteel (1977), em apenas 15,5% das ocasiões foi possível atingir o útero ou a porção cranial da cérvix de cabras nulíparas, condição bem diferente do que se obteve em animais adultos (57,4%). Neste caso, a taxa de concepção foi afetada de maneira similar.

Barbosa (1999) observou uma variação significativa dos locais de deposição do sêmen no trato genital da fêmea ($P < 0,05$), sendo que 65,5% (205/313) das inseminações foram intra-uterinas, 1,92% (06/313) intravaginais, 20,77% (65/313) cervicais superficiais, e 11,82% (37/313) cervicais profundas. De acordo com a pesquisadora, as deposições intravaginais relacionaram-se à categoria reprodutiva das fêmeas. Dentro desse contexto, as nulíparas apresentaram difícil visualização e transposição cervical.

Ritar e Salamon (1983) verificaram que a proporção de cabras em que foi possível realizar-se inseminação intra-uterina, variou de 12, 53, 24 e 39% nos tratamentos realizados. A profundidade da IA influenciou a taxa de fertilidade.

Azevedo et al. (1998) mencionam que além da maior dificuldade em transpor a cérvix em cabras nulíparas, há também um maior nível de estresse nestas fêmeas durante as inseminações, capaz de influenciar a taxa de gestação.

Barbosa (1999) obteve 24,29% de concepção em nulíparas e 37,01% em múltíparas ($P > 0,05$). Segundo a autora, a diferença numérica pode ter sido influenciada pelo maior número de

inseminações intra-uterinas realizadas nas múltiparas.

Azevedo et al. (1995) mencionam que quando o número de espermatozóides não é limitante, deposições de sêmen em sítios mais profundos do trato genital feminino não incrementam a taxa de concepção. Neste sentido, Corteel et al. (1984), inseminando cabras com sêmen congelado, com uma dose de 200×10^6 espermatozóides viáveis e com deposição cervical, obtiveram taxa de concepção de 65,1%.

Ritar e Salamon (1983) observaram taxas de concepção similares para o sêmen resfriado (67,3%) e congelado (67,4%), quando se realizou IAs intra-uterinas. Porém observaram incremento na fertilidade com inseminações mais profundas, quando do uso do sêmen congelado (14,3% - inseminação cervical vs 67,4% - inseminação intra-uterina). A taxa de concepção para o sêmen resfriado não sofreu, na mesma magnitude, a influência do local de deposição (41,7% - inseminação cervical vs 67,3% - inseminação intra-uterina).

Roca et al. (1997) não observaram diferenças quanto ao local de deposição do sêmen, quando obtiveram taxa de concepção de 73% para inseminação cervical e de 74% para inseminação intra-uterina. Para os autores, a alta concentração espermática utilizada (120×10^6 spz/ml) foi responsável por estes resultados.

Paulenz et al. (2005) não observaram diferenças na fertilidade de cabras inseminadas, em estro natural, com sêmen a fresco envolvendo deposição vaginal (74,3%) ou cervical (78%), utilizando dose de 200×10^6 spz/ml.

Em muitos experimentos fica difícil determinar a verdadeira influência do local de deposição do sêmen no trato genital da fêmea sobre a taxa de gestação, pois existem

outros fatores capazes de influenciar os resultados, tais como os métodos de preservação do sêmen, a concentração e o volume da dose inseminante, bem como o momento da inseminação, dentre outros, e que não se relacionam em nada com o local de deposição do sêmen. Porém, quando associados à esta última variável, podem influenciar, positivamente ou negativamente, a fertilidade das cabras.

2.5.2.2 - Efeito do número de inseminações artificiais sobre a fertilidade de cabras inseminadas

De acordo com Roca et al. (1997) a dupla inseminação geralmente eleva os índices de concepção de um rebanho. Em equinos, o maior número de inseminações é responsável, muitas vezes, por piores resultados de fertilidade, devido à maior contaminação uterina veiculada pelo sêmen (Pickett et al., 1987).

Em caprinos, Ritar (1993) observou que duas inseminações não melhoraram a taxa de concepção quando o número total de espermatozóides, depositado em uma única inseminação, é suficiente para haver fecundação (pelo menos 120×10^6 spz/ml). Da mesma maneira, Corteel et al. (1980) recomendaram que duas inseminações com sêmen congelado devem ter, em cada dose, $60-75 \times 10^6$ espermatozóides móveis.

Além do mais, Corteel et al. (1988) e Ritar e Ball (1993) observaram baixa taxa de concepção após duas inseminações, sugerindo-se um efeito negativo do estresse adicional durante a contenção das fêmeas para realização da inseminação. Além disso, pouco ou nenhum ganho é obtido na segunda inseminação quando se realiza a primeira em tempo ótimo em relação ao momento da ovulação.

A realização de várias inseminações provoca uma distensão vaginal com conseqüente liberação de oxitocina, resultando em

aumento da contratilidade vaginal e cervical. Segundo Gordon (1997) tais contrações possuem efeito adverso no transporte espermático, prejudicando a fecundação.

De acordo com Ritar e Salamon (1983), quando o número de espermatozoides não é limitante, duas inseminações não trazem vantagens. Assim, estes pesquisadores não observaram diferenças entre uma ou duas inseminações, com 60 ou 120×10^6 espermatozoides por dose inseminante. A taxa de concepção observada foi de 46,7% para uma única inseminação às 48 horas; 45,0% para uma inseminação às 59 horas; e 42,0% para duas inseminações, com 48 e 59 horas após a remoção da esponja.

Além disso, Ritar e Salamon (1983) também observaram não haver diferenças significativas nas taxas de concepção para o sêmen resfriado ou congelado quando da realização de duas inseminações (68,5% e 53,3%, respectivamente). Para o sêmen congelado, uma inseminação resultou em menor taxa de concepção (34,7%), em relação à obtida com duas inseminações (53,8%).

Sahni (1987) observou que duas inseminações em um mesmo estro aumentaram a taxa de concepção de 74,7 para 78,8%. Neste caso, aspectos econômicos como o custo do sêmen e da mão de obra devem ser considerados (Machado e Simplício, 1995).

Corteel (1976) relatou que o benefício de duas inseminações para cabras não é atribuído ao aumento do número de espermatozoides depositados mas, possivelmente, à maior probabilidade de se

inseminar próximo ao momento da ovulação.

Além disso, inseminações realizadas na ausência de plasma seminal são responsáveis pelo influxo de polimorfo-nucleares (PMN) no lúmen uterino, que pode persistir por mais de 24 horas (Rozeboom et al., 1999). Assim, ao se realizarem sucessivas inseminações, o sêmen e posteriormente o embrião são expostos a um ambiente uterino desfavorável, levando à redução da performance reprodutiva das fêmeas.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Localização geográfica, condições climáticas e período experimental

O experimento foi realizado na Granja Água Limpa localizada na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil, no município de Piau, situado a $21^{\circ} 35''$ de latitude S e $43^{\circ} 15''$ de longitude W, a uma altitude média de 435 m, temperatura média anual de 21°C , índice pluviométrico médio anual de 1581 mm (milímetros cúbicos) e clima tipo Cwa (inverno seco e verão chuvoso), pela classificação de Köppen, distando 287 Km de Belo Horizonte.

O período experimental compreendeu o intervalo entre os meses de março a junho de 2005, representando a estação fisiológica de reprodução da espécie caprina nesta região.

As características climáticas observadas durante o período experimental estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Dados meteorológicos médios do período experimental

Período (mês/ano)	Temperatura (°C)			Umidade relativa do ar (%)	Precipitação pluviométrica (mm/mês)	Insolação diária* (horas)
	Média Máx.	Média Mín.	Média compensada			
Março/2005	29,6	20,1	23,9	81	304,7	187,7
Abril/2005	29,2	19,0	23,3	79	55,8	227,9
Maió/2005	26,6	15,4	20,0	82	74,8	195,1
Junho/2005	25,1	13,5	18,3	88	33,7	179,2

Fonte: Estação Meteorológica – Embrapa Gado de Leite

* Horas de sol direto, sem a obstrução de nuvens

3.2 - Animais experimentais

3.2.1 - Reprodutores

Foram utilizados como doadores de sêmen dois machos caprinos da raça Toggenburg, sexualmente maduros, com idade e peso vivo médios de 4 anos e 60 kg, respectivamente, para os bodes 1 e 2. Os reprodutores possuíam 31 e 28 cm de biometria testicular (B1 e B2, respectivamente).

3.2.2 - Fêmeas

Foram utilizadas 62 fêmeas da raça Toggenburg, sendo 17 em lactação, 28 secas e 15 nulíparas, em idade reprodutiva e livres de patologias ligadas à reprodução, divididas, aleatoriamente, em dois lotes, com médias de peso e escore da condição corporal de 45,6 kg e 3,5, respectivamente, para o lote 1, e de 46,4 Kg e 3,5, para o lote 2.

Não foi possível definir a categoria reprodutiva de duas das fêmeas utilizadas no experimento (secas ou cabritas), que foram, da mesma forma como as outras 60 fêmeas, distribuídas ao acaso entre os tratamentos.

A condição corporal foi avaliada por meio da palpação das regiões dorso-lombar e esternal, obedecendo-se a um sistema de escore subjetivo de 1 a 5, com escalas de 0,25, referindo-se o valor 1, aos animais

mais magros e o de 5 aos obesos (Fonseca, 2005, comunicação pessoal).

3.3 - Manejo e alimentação dos animais

Todos os animais foram mantidos em baias suspensas de piso ripado e manejados em sistema intensivo. As fêmeas foram alimentadas com silagem de milho, capim elefante picado (*Pennisetum purpureum*) e/ou cana de açúcar, dependendo da disponibilidade, e concentrado balanceado de acordo com a produção leiteira (1 kg de concentrado para 2 kg de leite), duas vezes ao dia. O concentrado utilizado na alimentação dos animais era de fabricação própria, constituído de 37% de farelo de soja, 30% de fubá, 30% de sorgo moído e 3% de um suplemento mineral, e continha 22% de PB e 80% de NDT, na matéria seca. As cabras em lactação - cabras com produção diária de 4 kg de leite - recebiam e consumiam 2 kg de concentrado, 2 kg de silagem de milho (38% MS) e 0,25 kg de feno de *Cynodon spp.* Os reprodutores recebiam rolão de milho e capim elefante picado duas vezes ao dia. Água e sal mineral eram fornecidos à vontade, permanentemente.

O controle sanitário do rebanho incluía vacinações contra pneumoenterite, nas cabras no último mês de gestação e nos filhotes aos 15 - 20 dias de vida, e, Biodectin (vacina contra linfadenite em ovinos, em uso experimental em caprinos), nas mesmas

épocas; vermifugações sempre que necessário, segundo observação visual dos animais ou exame de fezes; e desinfecção das baias com solução de formol, uma vez por semana e, da sala de ordenha, com cal virgem, uma vez por mês.

3.4 - Grupos experimentais

Utilizaram-se, no presente estudo, 62 fêmeas de diferentes categorias reprodutivas (cabritas, secas e lactantes), distribuídas ao acaso, em um esquema fatorial 2x2, considerando-se dois reprodutores (Bodes 1 e 2) e dois tempos de armazenamento do sêmen resfriado a 5°C (12 ou 24 horas), como descrito abaixo:

T1B1: Cabras inseminadas com o sêmen do bode 1, resfriado por 12 horas a 5°C (n = 14);

T1B2: Cabras inseminadas com o sêmen do bode 1, resfriado por 24 horas a 5°C (n = 13);

T2B1: Cabras inseminadas com o sêmen do bode 2, resfriado por 12 horas a 5°C (n = 13);

T2B2: Cabras inseminadas com o sêmen do bode 2, resfriado por 24 horas a 5°C (n = 15).

Das 62 cabras submetidas à sincronização com PGF2 α (Quadro 1), seis (9,68%) não responderam à segunda aplicação e, portanto, não foram inseminadas. Uma cabra, respondeu à segunda dose de prostaglandina e foi inseminada, mas persistiu em cio por 225 horas sendo, por isso, retirada do experimento.

A distribuição das fêmeas por tratamento era feita de acordo com a ordem de aparecimento do cio, de modo a não beneficiar qualquer tratamento.

Como se verifica nas Tabelas 5 e 6, não houve efeito de bode ($P>0,05$) sobre as variáveis estudadas, nem se verificaram interações entre bodes e tratamentos. Também não houve diferença ($P>0,05$) na taxa de fertilidade entre os reprodutores (B1 = 51,85% e B2 = 46,43%).

Assim, os dados dos bodes 1 e 2 foram agrupados dentro de cada tratamento, passando-se a considerar, a partir de então, o efeito do tratamento sobre a fertilidade das cabras, independentemente do reprodutor.

As análises estatísticas das Tabelas 5 e 6 encontram-se no Anexo A.

Dessa forma, de acordo com o período de armazenamento do sêmen a 5°C, o experimento foi dividido em dois tratamentos, a seguir:

Tratamento 1: resfriamento do sêmen a 5°C e inseminação após 12 horas de estocagem (n = 27);

Tratamento 2: resfriamento do sêmen a 5°C e inseminação após 24 horas de estocagem (n = 28).

Tabela 5 - Efeito do tempo de armazenamento do sêmen e do reprodutor sobre a taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C

Reprodutores	Tratamentos		Total
	12 horas (n)	24 horas (n)	
Bode 1	50,00% (7/14)	53,85% (7/13)	51,85% (14/27)
Bode 2	61,54% (8/13)	33,33% (5/15)	46,43% (13/28)
Total	55,56% (15/27)	42,86% (12/28)	49,09% (27/55)

Tabela 6 - Efeito do reprodutor sobre a taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C

Reprodutores	Taxa de concepção (n)
Bode 1	51,85% (14/27)
Bode 2	46,43% (13/28)
Total	49,09% (27/55)

3.5 - Coleta e avaliação do sêmen

Antes do início do experimento, os bodes foram submetidos a uma avaliação clínico-andrológica consistindo de exame clínico geral, exame do sistema genital (prepúcio, pênis, testículos e epidídimos) e avaliação física do sêmen, a saber: volume, cor, turbilhonamento, motilidade e vigor (Anexo B). Além disso, avaliou-se a libido e o comportamento sexual dos animais, por meio da mensuração do tempo de reação (tempo decorrido entre a visualização da fêmea e a ereção do pênis), tempo para a monta (compreende o período entre a ereção e a monta), duração da ejaculação (compreende o tempo entre a monta a descida do animal após a ejaculação) e, finalmente, o número de saltos por ejaculado (Anexo B). Os animais foram submetidos a esta avaliação durante um mês, sendo coletados três vezes por semana.

Imediatamente antes do início do experimento, realizaram-se também duas coletas de cada reprodutor, intervaladas de 48 horas, visando-se o esgotamento de suas reservas espermáticas (Leboeuf, 2000).

Durante a execução do experimento foram realizadas duas coletas de sêmen por dia (7:00 e 19:00 horas), de cada reprodutor, nos dias 10 (dia da segunda aplicação de PGF 2 α), 11, 12 e 13, à partir da indução de cio das fêmeas (Quadro 1).

Quadro 1 - Cronograma adotado para a sincronização do estro e coleta do sêmen

	Dia0	Dia10	Dia11	Dia12	Dia13
	M T	M T	M T	M T	M T
PGF2 α	▲	▲			
Coleta		• •	• •	• •	• •

M = manhã, T = tarde

A coleta de sêmen foi realizada pelo método da vagina artificial, segundo Fonseca (2005, comunicação pessoal). Assim, após a montagem da vagina artificial, adaptava-se em seu interior um funil de plástico, de forma a evitar que o sêmen entrasse em contato com a membrana de látex. Desta forma, a extremidade anterior e o interior da vagina ficavam recobertos pelo funil de plástico. Na extremidade posterior da vagina acoplou-se ao funil um tubo de centrifuga graduado de 15 ml, protegido da luz solar com papel de alumínio, que recebia o sêmen no momento da ejaculação. Após a sua montagem, a vagina era preenchida com água aquecida a 51°C e, em seguida, lubrificada no seu interior com gel lubrificante².

A coleta foi realizada na presença de uma fêmea em cio, devidamente contida em um tronco de madeira.

Anotou-se para todos os ejaculados, em fichas individuais próprias, as características comportamentais dos bodes, bem como as físicas e espermáticas do sêmen (Anexo B).

Após a coleta, o sêmen era mantido a temperatura de 37°C, em banho-maria, e avaliado quanto às características físicas-volume (em ml), cor (amarelo a branco) e aspecto (aquoso a leitoso), e espermáticas.

A avaliação da motilidade (0 – 100%) e vigor (0-5), foi feita em microscópio óptico com aumento de 100 e 400 vezes,

² KY gel lubrificante – Johnson & Johnson

colocando-se uma gota de sêmen em lâmina sob lamínula, previamente aquecidas a 37°C (mesa aquecedora). O turbilhonamento ou movimento de massa foi avaliado colocando-se uma gota de sêmen em uma lâmina, previamente aquecida a 37°C, em microscópio óptico com objetivas de 100 e 200 X. O resultado foi expresso em uma escala de 0 a 5.

A concentração foi realizada pela contagem dos espermatozoides em Câmara de Neubauer, após diluição de 1:200 em Solução Salina a 3% (Evans e Maxwell, 1987).

3.6 - Diluição e resfriamento do sêmen

Após a avaliação, o sêmen foi diluído inicialmente na proporção de 1:1, em meio diluidor Tris-gema modificado (Evans e Maxwell, 1987 - Tabela 7), obtendo-se uma concentração final de 150×10^6 espermatozoides móveis por dose inseminante (0,25 ml).

Tabela 7 - Composição do diluidor Tris-frutose-gema de ovo utilizado no experimento

Reagentes	Quantidades
Tris (hidroximetil) aminometano (g)	3,634
Frutose (g)	0,50
Ácido cítrico (monohidratado) (g)	1,99
Gema de ovo (ml)	2,5
Água destilada (q.s.p.)	100 ml

Adaptado de: Salamon's artificial insemination of sheep and goats, (Evans e Maxwell, 1987).

Para o cálculo do número de doses inseminantes, dividia-se o número total de espermatozoides móveis do ejaculado pela concentração utilizada (150 milhões de espermatozoides). O volume de diluidor a ser adicionado (diluição final) era calculado multiplicando-se o número de doses pelo volume da dose (0,25 ml), menos o volume do ejaculado.

À seguir, o sêmen era envasado em palhetas de 0,25 ml, vedadas com álcool polivinílico e colocadas em tubos de ensaio de 15 ml contendo água destilada e autoclavada, com a finalidade de melhor condutibilidade da temperatura dentro do container, para um resfriamento mais uniforme.

Para que não houvesse contato direto da água com as palhetas, e deterioração do álcool polivinílico, essas foram armazenadas em saquinhos plásticos antes da sua colocação nos tubos de ensaio. Os tubos foram vedados com *plastic film*, identificados quanto ao tratamento correspondente e, então, colocados no container, que era imediatamente fechado.

O container utilizado, descrito por Palhares (1997), era composto por seis orifícios laterais, onde se armazenavam os tubos, e por um orifício central, de diâmetro maior, onde era mantido o bloco refrigerador. O orifício central comunicava-se com os laterais, dispostos de forma concêntrica, através de 14 orifícios de 0,7 cm de diâmetro.

Segundo Palhares (1997), a curva de resfriamento do container é de 0,07°C/min, com a estabilização da temperatura se dando depois de transcorridas seis horas do início do resfriamento.

O sêmen foi conservado desta forma até o momento da inseminação, após 12 ou 24 horas de armazenamento a 5°C.

3.7 - Indução, sincronização e monitoramento do estro

Para a indução do estro, as fêmeas receberam duas aplicações de 22,5 microgramas (μg) de prostaglandina sintética (d-cloprostenol³), na submucosa vulvar, intervaladas de 10 dias.

³ Prolise® (fco 20 ml) – Tecnopec

Após a primeira aplicação de PGF2 α , e até o dia do diagnóstico de gestação pela ultrasonografia, os animais foram monitorados quanto ao início do estro, três vezes ao dia (6:00, 12:00 e 18:00 horas), com auxílio de um rufião cirurgicamente preparado (rufião por translocação peniana e deferectomia).

Os sinais de estro observados foram procura pelo macho, micção freqüente, batimento de cauda, vocalização, hiperemia e edema de vulva, descarga vaginal de muco, monta nas companheiras e imobilidade à monta. Os sinais de estro observados eram anotados em fichas individuais próprias (Anexo C), utilizando-se siglas para classificar cada comportamento (Tabela 8). Considerou-se como início do cio a primeira aceitação de monta pelo rufião (imobilidade à monta).

Tabela 8 - Códigos utilizados para registrar as ações associadas ao comportamento sexual das cabras

N	Códigos da ação	Ação efetuada pela cabra
1	FU	Fuga
2	CB	Cauda baixa
3	PA	Passividade
4	MI	Micção
5	PM	Procura o macho
6	AC	Abana cauda
7	AM	Aceita monta
8	MC	Monta companheira
9	CL	Cauda levantada
10	BE	Berro

3.8 - Inseminação artificial

Foi realizada uma única inseminação, 12 horas após a aceitação da monta.

Além disso, foram inseminadas somente as cabras que responderam, até o quarto dia, à aplicação da segunda dose de PGF2 α . Desta forma, as cabras que entraram em cio após este período não foram inseminadas por não se considerar este, um cio induzido.

A inseminação foi realizada pelo método do pinçamento de cérvix, com o animal em

estação e devidamente contido em um tronco, após a devida higienização a seco da vulva para posterior introdução do espéculo (Figura 1).

O espéculo, devidamente lubrificado com gel KY, era introduzido fechado na vulva e, paralelamente, em relação aos lábios vulvares (Figura 2). A introdução foi feita cuidadosamente, para não lesar a mucosa vaginal, e em sentido dorso-cranial.

Após sua completa introdução, o espéculo era aberto, com cuidado para não haver laceração vulvar (Figuras 3 e 4). Com auxílio de uma fonte luminosa, a abertura caudal da cérvix era então visualizada (Figura 5). O primeiro anel cervical era pinçado (pinça de Allis de 25 cm) e levemente tracionado caudalmente, para facilitar a introdução do aplicador (Figuras 6 e 7). Com esse método, 98,2% das inseminações foram realizadas intra-uterinamente.

No momento da inseminação, o container era aberto e a dose de sêmen, correspondente ao tratamento, era retirada.

Para não haver risco de contato do sêmen com a água, a palheta era seca com papel toalha antes de sua introdução no aplicador.

Assim que se pinçava a cérvix, o aplicador era montado para que o sêmen permanecesse o mínimo de tempo em seu interior.

Entre as inseminações de um animal para o outro, as bainhas eram descartadas e o restante do material higienizado em solução a 10% de Kilol – L⁴ e água fervente.

Do total de fêmeas inseminadas (55), quatro foram inseminadas duas vezes, no mesmo cio. Para as análises estatísticas, foram considerados apenas os dados referentes à segunda inseminação. Os dados relativos à

⁴ Kilol-L – Quinabra – Brasil

primeira inseminação encontram-se disponíveis para consulta no Anexo D (Tabela 22).

3.9 - Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação foi feito aos 21 e 60 dias (lote 2)*, e aos 30 dias (lote 1)*, por ultra-sonografia trans-retal, com auxílio de probe de 5 MHZ, utilizando-se um ultra-som Aloka, modelo SSD-500*.

Também se considerou o monitoramento diário do retorno ao cio.

3.10 - Análises estatísticas

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, considerando-se os bodes como o bloco, envolvendo dois tempos de estocagem do sêmen (12 e 24 horas) e uma temperatura de armazenamento (5°C).

As fêmeas foram inseminadas com o sêmen destes dois bodes e, distribuídas uniformemente, entre os tratamentos.

Os dados relativos à taxa de concepção (taxa de concepção total, taxa de prenhez por tipo de muco, taxa de prenhez por categoria reprodutiva, taxa de prenhez por bode e tratamento), assim como o período de manifestação do cio e a distribuição do tipo de muco, categoria reprodutiva e local de deposição do sêmen por tratamento, foram processados pelo SAS (Statistical Analysis System, Versão 5 - Microsoft®) e avaliados pelo teste do Qui-Quadrado (χ^2) para detecção de eventuais diferenças entre as variáveis avaliadas para cada grupo experimental.

Os dados referentes ao intervalo entre as aplicações de PGF2 α ao início do estro,

duração do estro, tempo da coleta à inseminação, intervalo início do cio à inseminação, duração da inseminação, intervalo da IA ao término do cio e retorno do cio após a IA, foram submetidos à Análise de Variância (Sampaio, 2002) e Teste de Student-Newman-Keuls (SNK) para comparação de mais de duas médias e o Teste t de Student, para comparação de diferenças entre duas médias.

Os dados referentes ao comportamento sexual dos bodes e as análises do sêmen foram submetidos à Análise de Variância (Sampaio, 2002) e Teste t de Student e SNK (5%), para comparação de diferenças entre as médias. Os dados relacionados à motilidade espermática foram transformados para ângulos, correspondendo a arco-seno \sqrt{x} , antes da Análise de Variância.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Comportamento sexual, características físicas do sêmen e desempenho reprodutivo dos bodes

Durante a fase experimental foram realizadas 35 coletas de sêmen, cujos dados referentes ao comportamento sexual, avaliação física do sêmen e desempenho reprodutivo dos bodes utilizados encontram-se na Tabela 9.

Durante a fase pré-experimental (março/2005), os reprodutores foram submetidos ao condicionamento à coleta pelo método de vagina artificial. Durante este período, realizou-se 32 coletas, cujos dados referentes ao comportamento sexual, à avaliação física do sêmen e desempenho reprodutivo dos bodes utilizados encontram-se nas Tabelas 23 e 24 (Anexo E).

* Lote 1 – refere-se as cabras inseminadas no período de 26 a 28 de abril, 2005

* Lote 2 – refere-se as cabras inseminadas no período de 10 a 12 de maio, 2005

* Aloka, modelo SSD – 500, Tokyo, Japan.



Figura 1. Higienização da vulva



Figura 3. Introdução do espelho



Figura 5. Visualização da cervix

Figura 2. Introdução do espécuro, devidamente lubrificado, na vulva

Figura 4. Abertura do espécuro

Figura 6. Pinçamento da cervix

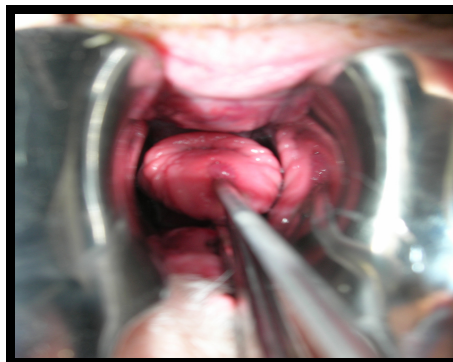


Figura 7. Introdução do aplicador

Tabela 9 - Comportamento sexual, características físicas do sêmen e desempenho reprodutivo dos bodes durante o período experimental

Parâmetros avaliados	Bode 1 (n=18)	Bode 2 (n=17)
	Média ± s	Média ± s
Idade dos bodes (anos)	3	5
Circunferência escrotal (cm)	31	28
Tempo de reação (s)	00:58:37 ± 01:08:13 ^a	00:30:16 ± 00:35:08 ^b
Tempo para a monta (s)	00:08:05 ± 00:15:34 ^a	02:42:01 ± 01:58:04 ^b
Duração da ejaculação (s)	00:01:20 ± 00:00:38	00:02:02 ± 00:01:01
Nº de saltos/ejaculado	1,17 ± 0,51	1,00 ± 0,00
Volume de sêmen (ml)	1,06 ± 0,09	1,45 ± 0,12
Motilidade (0-100%)	83% ± 5,00	78% ± 4,00
Vigor (0-5)	4,14 ± 0,48	4,00 ± 0,40
Turbilhonamento (0-5)	3,83 ± 0,57	3,27 ± 0,44
Total de sptz/ml x 10 ⁶	2020,28 ± 642,74	1900,88 ± 390,18
Total de sptz móveis/ml x 10 ⁶	1683,43 ± 584,18 ^a	1470,06 ± 68,69 ^b
Total de sptz/ejaculado x 10 ⁶	2118,69 ± 1038,61	2779,24 ± 1184,05
Total de sptz móveis/ejaculado x 10 ⁶	1775,11 ± 937,90	2126,82 ± 865,43
Nº de doses/ejaculado*(potencial)	11,83 ± 6,25	14,18 ± 5,77
Nº de cabras inseminadas/ejaculado	3,00 ± 1,33	3,56 ± 1,94

^{a,b} médias, na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem (p<0,05) pelo teste t de Student.

* Utilizando uma concentração de 150x10⁶ sptz móveis/dose.

A avaliação física do sêmen diluído com 0, 12 (tratamento 1) ou 24 horas (tratamento 2) de armazenamento a 5°C está representada na Tabela 10.

As análises estatísticas correspondentes aos dados das Tabelas 9 e 10 encontram-se no Anexo F.

Não se observaram diferenças (P>0,05) quanto à motilidade e vigor espermáticos nos períodos de 12 ou 24 horas de armazenamento do sêmen a 5°C (Tabela 10).

A motilidade e vigor médios dos ejaculados dos dois reprodutores, após 12 ou 24 horas de resfriamento do sêmen a 5°C, foi de 66,14

± 0,11% e 62,50 ± 0,05 %, e 3,46 ± 0,61 e 3,27 ± 0,50, respectivamente.

De acordo com Leboeuf et al. (2000), a maioria dos estudos relacionado à preservação do sêmen não lavado e resfriado, relata viabilidade e fertilidade por até 5-8 horas; e que períodos de armazenamento mais longos, como 12 ou 24 horas, resultam em baixa taxa de fertilidade.

Da mesma forma, para Gonçalves et al. (2001) e Medeiros et al. (1994), o sêmen caprino conservado sob refrigeração a 4°C deve ser utilizado em um curto espaço de tempo, mantendo sua viabilidade por até 48 horas de armazenamento.

Tabela 10 - Características físicas do sêmen diluído com 0, 12 ou 24 horas de armazenamento a 5°C

	0 hora		12 horas		24 horas	
	Motilidade (%)	Vigor (1-5)	Motilidade (%)	Vigor (1-5)	Motilidade (%)	Vigor (1-5)
Bode 1	83±5,00 ^a	4,14±0,48 ^a	68,06±15,35 ^b	3,53±0,72 ^b	65,59±3,48 ^b	3,38±0,49 ^b
Bode 2	78±4,00 ^a	4,00±0,40 ^a	64,12±5,37 ^b	3,38±0,49 ^b	59,41±5,27 ^b	3,15±0,49 ^b

^{a,b} médias, na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem (p<0,05) pelo teste SNK.

Azawi et al. (1993) ao avaliarem seis diluidores diferentes observaram que os melhores resultados, em diferentes tempos de estocagem, foram obtidos com o diluidor Tris-frutose-gema, com motilidade de 53,1%, após 24 horas de armazenamento, e 21,7% após 120 horas de armazenamento.

Este resultado apresenta-se inferior ao obtido no presente experimento, após 24 horas de armazenamento do sêmen (62,5%; Tabela 10).

A avaliação “in vitro” do sêmen resfriado a 4°C, realizada por Nunes e Feliciano Silva (1984), evidenciou que, no terceiro dia de armazenamento, a porcentagem de espermatozóides vivos encontrava-se no limite mínimo de sua utilização (30% de motilidade). Porém, com relação às alterações morfológicas, nas primeiras 24 horas de armazenamento, encontravam-se no limite máximo para a utilização do sêmen, que é de 15%.

Resultados superiores aos obtidos neste experimento foram observados por Singh e Purbey (1996) ao avaliarem a viabilidade espermática “in vitro”, após 24 horas de resfriamento a 5°C, em meio diluidor Tris, com 20% de gema. A motilidade observada foi de 74,52% e a integridade acrossomal de 82,24%. Neste caso, a alta porcentagem de gema de ovo adicionada ao diluidor, não causou prejuízos à motilidade espermática.

Por outro lado, Roca et al. (1997) observaram que os espermatozóides foram preservados a 5°C, por um período um pouco mais longo, de até 36 horas, em meio diluidor contendo apenas 2% de gema de ovo.

Períodos mais longos de armazenamento do sêmen resfriado foram relatados por outros pesquisadores. Dessa forma, Eppleston et al. (1994), citados por Leboeuf et al. (2000), relataram a manutenção da capacidade fecundante dos espermatozóides por oito

dias, quando armazenados a 5°C, em diluidor de Tris-frutose-gema (2% de gema). Pomares et al. (1994), citados por Leboeuf et al. (2000), relataram um período maior de sobrevivência espermática (12 dias), a 5°C, ao incorporarem antioxidantes ao meio diluidor.

No presente experimento, a avaliação “in vitro” do sêmen resfriado a 5°C, em meio diluidor contendo 2,5% de gema, evidenciou uma boa viabilidade espermática as 24 horas de armazenamento, uma vez que não houve diferença ($P>0,05$) deste período em relação ao período de 12 horas, com relação aos parâmetros seminais avaliados.

Contudo, são necessários mais estudos baseados em um período maior de preservação do sêmen caprino, tendo em vista a grande variabilidade de respostas ao resfriamento encontradas na literatura, à escassez de pesquisas “in vivo” e à importância da difusão desta técnica para a caprinocultura nacional.

Salienta-se, além disso, a importância de uma avaliação morfológica mais profunda, notadamente da integridade das membranas (acrossomal e plasmática), do percentual de células vivas antes e após o resfriamento e do percentual de caudas dobradas, associada à testes de fertilidade.

4.2 - Parâmetros reprodutivos e fertilidade das cabras inseminadas

Neste estudo, os resultados foram apresentados considerando-se dois tipos de parâmetros: parâmetros de controle e parâmetros de resultados.

Os parâmetros de controle são aqueles que informam sobre a homogeneidade dos tratamentos, não sendo resultados destes.

Consideraram-se como parâmetros de controle as seguintes características: número de cabras, idade, escore corporal e peso.

Os parâmetros de resultados representam à resposta aos tratamentos avaliados. Os parâmetros de resultados foram: intervalo 2^a PGF2 α – cio, duração do cio após 2^a PGF2 α , tempo da coleta à IA, intervalo início do cio – IA, duração da IA, intervalo IA – término do cio, taxa de concepção e retorno do cio após IA.

Não se observou efeito ($P>0,05$) do tratamento sobre os parâmetros reprodutivos avaliados nem sobre a fertilidade das cabras inseminadas, com sêmen resfriado a 5°C por 12 ou 24 horas (Tabela 11).

Tabela 11 - Parâmetros reprodutivos e taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas, em meio diluidor a base de gema de ovo

Parâmetros Avaliados	Tratamentos	
	12 h de armazenamento (n)	24 h de armazenamento (n)
Parâmetros de Controle		
Número de cabras	27	28
Idade (meses)	40,27 \pm 27,81 (22)	40,14 \pm 24,51 (22)
Escore corporal (1-5)	3,46 \pm 0,74 (26)	3,49 \pm 0,58 (25)
Peso (Kg)	44,41 \pm 8,85 (27)	47,22 \pm 8,41 (28)
Parâmetros de Resultado		
Intervalo 2^aPGF2α – cio (h)	45,33 \pm 9,93 (27)	47,14 \pm 10,51 (28)
Duração do cio após 2^a PGF2α (h)	33,67 \pm 12,18 (27)	31,07 \pm 12,36 (28)
Tempo da coleta à IA (h)	12,09 \pm 1,95 (27)	23,99 \pm 2,26 (28)
Intervalo início do cio – IA (h)	19,77 \pm 6,41 (27)	17,83 \pm 5,07 (28)
Duração da IA (seg.)	72,19 \pm 55,10 (27)	62,52 \pm 55,61 (27)
Intervalo IA ao término do cio (h)	13,69 \pm 12,13 (27)	13,02 \pm 14,07 (28)
Taxa de concepção (%)	55,56 (15/27)	42,86 (12/28)
Retorno do cio após a IA (dias)	11,28 \pm 7,88 (11)	12,89 \pm 8,33 (16)

Observou-se que as cabras que retornaram ao cio após a IA, o fizeram em um curto período, caracterizando assim, ciclos estrais de curta duração.

As análises estatísticas dos parâmetros reprodutivos, descritos na Tabela 11, encontram-se no Anexo G.

4.2.1 - Fertilidade das cabras inseminadas

As taxas de concepção obtidas com uma única inseminação, 12 horas após a identificação do cio, utilizando-se sêmen resfriado a 5°C e armazenado por 12 ou 24 horas foram de 55,56% e 42,86%, respectivamente, sem que houvesse diferenças ($P>0,05$) entre elas (Tabela 11).

Resultados numericamente superiores, porém próximos aos observados neste estudo foram relatados por Borgohain et al.

(1985), ao trabalharem com sêmen resfriado a 5°C por um período de 48 horas. Estes pesquisadores obtiveram taxa de concepção de 64,15% para o sêmen preservado em diluidor à base de leite e, de 61,11%, para o sêmen preservado em diluidor Citrato-gema, após uma única inseminação, 24-36 horas do início do cio natural.

Da mesma forma, Ritar e Salamon (1983) citaram taxa de não retorno de 65,6% após uma única inseminação (120×10^6 sptz/0,20ml), porém utilizando sêmen a fresco e diluído.

Em ovinos, Colas e Guerin (1980) obtiveram taxa de concepção de 51%, utilizando o sêmen 24 horas após o resfriamento.

Além destes, outros trabalhos relataram taxas de concepção para o sêmen caprino resfriado variando de 50 a 60% (Dauzier,

1966; Eppleston et al., 1994; Karatzas et al., 1997).

Resultados superiores aos do presente estudo foram relatados por Roca et al. (1997) utilizando sêmen não lavado, preservado em meio diluidor contendo 2% de gema de ovo e resfriado a 5°C, obtendo taxa de concepção de 73,5%, porém após duas inseminações. Além disso, a concentração/dose inseminante utilizada por estes pesquisadores foi de 240×10^6 spz/ml, enquanto que a utilizada no presente experimento foi de 150×10^6 spz/0,25 ml. Há que se enfatizar ainda que a realização de mais de uma inseminação possibilita inseminar-se em um momento mais próximo da ovulação.

Resultados de concepção variando de 60,7 a 87%, após uma única inseminação, realizada entre 12-24 horas após o início do estro natural, foram descritos por Dauzier (1966), Corteel (1971), França (1981) e Vivanco et al. (1982). Estes resultados são superiores aos observados no presente experimento, apesar do momento da inseminação compreender o mesmo período, entre 12-24 horas do início do cio. Porém, nesse estudo, utilizou-se apenas um ciclo estral, enquanto que nos estudos descritos acima, as taxas de concepção referem-se aos resultados de uma estação reprodutiva (taxa de concepção total).

Um fator que pode afetar negativamente a taxa de concepção é a duração da inseminação. De acordo com Ribeiro (1997) a inseminação deve ser realizada dentro de dois minutos, pois o sêmen deve permanecer o menor tempo possível dentro do aplicador, sob condições de temperatura adversas à sua sobrevivência. Além disso, inseminações muito prolongadas podem estressar o animal, além de riscos de sangramento.

Com relação ao momento da inseminação observa-se (Tabela 11), pelos parâmetros duração média do cio, intervalo médio do início do cio à IA e intervalo médio da IA ao

término do cio, que a mesma foi realizada, na maioria dos casos, em momento adequado, próximo ao terço final do estro.

Como nesse estudo as cabras foram inseminadas, em média, $19,02 \pm 5,66$ horas do início do estro, pode ser que aquelas que apresentaram cio de longa duração foram inseminadas muito precocemente, ao contrário daquelas com cios muito curtos, cujas inseminações foram realizadas tardiamente. Essas duas situações podem ter influenciado os resultados da taxa de concepção obtida nesse experimento, pois, segundo Smith (1986), o melhor momento para se realizar a IA, na espécie caprina, é no terço final do estro, uma vez ser este o período no qual ocorre a ovulação.

Contrariamente, Dauzier (1966) avaliando a taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen resfriado, à diferentes intervalos do início do cio natural, observou que a taxa de concepção foi maior (70%) quando as inseminações foram realizadas nas primeiras 12 horas do cio. No período entre 12-24 do início do cio, obteve-se taxa de concepção de 63%. A redução da concepção foi maior (47%) quando a inseminação foi realizada 24 após o início do cio.

Em muitos experimentos fica difícil determinar a verdadeira influência do momento da inseminação sobre a taxa de concepção, uma vez que vários fatores podem interferir neste resultado. Dentre eles, vale salientar o método de preservação do sêmen, a concentração e o volume da dose inseminante, a duração do estro e o local de deposição do sêmen no trato reprodutivo feminino.

No presente estudo, como não se observaram diferenças ($P > 0,05$) entre tratamentos, no que se refere à taxa de concepção e às características seminais descritas acima, pretende-se que a utilização do sêmen, dentro de 24 horas de armazenamento, torne-se uma opção viável

ao seu transporte a longas distâncias (Tabelas 10 e 11).

4.2.2 - Parâmetros reprodutivos das cabras inseminadas

Observa-se, na Tabela 12, influência ($P < 0,05$) da aplicação de PGF2 α sobre os parâmetros intervalo PGF2 α -estro e duração do estro. Assim, os maiores valores ($P < 0,05$) referentes ao intervalo PGF2 α -estro foram observados após a segunda aplicação. Por outro lado, os dados referentes à duração do estro foram menores ($P < 0,05$) após a segunda aplicação. Na Tabela 11 (página 63) não se observa diferenças ($P > 0,05$) no intervalo entre a aplicação de PGF2 α e o início do estro nem na sua duração, após a segunda aplicação de PGF2 α , entre os tratamentos.

Tabela 12 - Intervalo médio do tratamento ao início do estro e sua duração, em horas, após a aplicação de duas doses de prostaglandina, intervaladas de 10 dias

Variáveis	1ª aplicação de PGF2 α (n) média \pm s	2ª aplicação de PGF2 α (n) média \pm s
Intervalo PGF2 α – estro (horas)	41,04 \pm 20,32 ^a (53)	45,67 \pm 9,28 ^b (55)
% manifestação do estro	85,48 (53/62)	88,71 (55/62)
Duração estro (horas)	40,02 \pm 15,96 ^a (53)	32,24 \pm 12,09 ^b (55)

^{a,b} médias, na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem ($p < 0,05$) pelo teste t de Student

A manifestação do estro foi observada em 85,48% dos animais tratados, com a primeira dose de PGF2 α , em um período médio de 41,04 \pm 20,32 horas. Após a administração da segunda dose de PGF2 α , 88,71% das fêmeas entraram em estro, em um período médio de 45,67 \pm 9,28 horas.

Ott et al. (1980a) utilizando duas doses de PGF2 α , intervaladas de 11 dias, observaram 70,6% de manifestação de estro em um período de 54 \pm 3 horas após a aplicação da primeira dose de prostaglandina. Além disso, 94% dos animais manifestaram estro 52 \pm 3 horas após a segunda aplicação.

Resultados semelhantes, mas numericamente inferiores aos aqui observados, para a primeira aplicação de PGF2 α , foram obtidos por Fonseca (2002), que observou manifestações de estro de 73,7% e 89,5% após a aplicação da primeira e segunda doses de prostaglandina, respectivamente. Porém, este autor não observou diferenças nos intervalos entre as aplicações de prostaglandina e início do estro, apesar de numericamente diferentes (44,5 \pm 15,9 horas – 1ª aplicação vs 49,9 \pm 11,9 horas – 2ª aplicação).

A presença de um corpo lúteo funcional, no momento da aplicação de PGF2 α , pode influenciar a resposta quando do tratamento com prostaglandina. Prosperi (2004) demonstrou responsividade do corpo lúteo à PGF2 α já no terceiro dia da fase luteal em 69,23% das cabras estudadas. Da mesma forma, Rubianes et al. (2003) demonstraram que a refratariedade do corpo lúteo está restrita aos dois primeiros dias de sua formação.

Visando contornar tal problema e melhorar a sincronização do estro com a prostaglandina, utilizam-se duas aplicações, intervaladas de nove a 12 dias. A primeira aplicação de PGF2 α induz a luteólise somente naqueles animais com corpo lúteo funcional. Na segunda aplicação, a grande maioria, ou a totalidade dos animais apresentam um corpo lúteo funcional (Ott et al. 1980b), formado após a primeira aplicação de prostaglandina. Dessa forma, a resposta ao tratamento com prostaglandina é maior e mais sincrônica após a segunda administração de PGF2 α , condição observada nesse estudo (Tabela 12 e Anexo H).

Da mesma forma, Beck et al. (1993) compararam o tratamento com uma e duas aplicações de cloprostenol (125µg), a intervalos de 11 dias, e observaram manifestação de estro em 100% das ovelhas após a segunda aplicação de prostaglandina. Além disso, Mellado et al. (1994) ao administrarem prostaglandina (dinoprost), em diferentes doses (6, 4, 2, 1,5, 1 e 0,5mg), por via intramuscular (IM) ou na submucosa vulvar (SMV), verificaram que o intervalo do tratamento ao início do estro está diretamente relacionado à via de administração. Portanto, quando a PGF2 α foi aplicada por via intramuscular, observou-se maior tempo para o aparecimento do estro. Assim, para uma mesma dose (6mg), 35% das cabras manifestaram estro dentro de 48 horas (IM) e 36%, dentro de 24 horas (SMV).

Em novilhas, Alvarez et al. (1991) não encontraram diferenças ($P>0,05$) no intervalo do tratamento com prostaglandina F2 α ao início do estro, qualquer que fosse a via de administração (IM ou SMV). Entretanto, as novilhas que receberam PGF2 α por via intramuscular, apresentaram estro 13,5 horas mais tarde quando comparadas às tratadas por via submucosa vulvar.

Possivelmente, os intervalos menores do tratamento ao início do estro observados neste estudo, quando comparados aos de Ott et al. (1980a), Ott et al. (1980b) e Goel e Agrawal (1998), deveram-se às diferentes vias de administração da prostaglandina.

A administração por via submucosa vulvar faz com que a prostaglandina alcance o ovário mais rapidamente, reduzindo a taxa de metabolização sistêmica (Mellado et al., 1994; Mongo, 1987). Assim, a luteólise ocorre mais rapidamente e os animais entram em estro em um período mais curto após o tratamento.

No que se refere à duração do estro, observa-se na Tabela 12 uma redução na sua duração ($P<0,05$), após a segunda dose de PGF2 α .

Fonseca (2002), também utilizando um protocolo de duas aplicações de um análogo da prostaglandina (d-cloprostenol), intervaladas de 10 dias, observou redução na duração do estro, após a segunda aplicação (16,2 \pm 10,8 horas), em relação à observada após a primeira dose de PGF2 α (31,7 \pm 11,1 horas).

Romano (1994), estudando a influência de vários estímulos sobre a duração do estro, observou que a monta e a estimulação mecânica da vagina reduziram significativamente a duração do estro (22,8 \pm 5,0 horas e 27,6 \pm 6,8 horas, respectivamente vs 42,0 \pm 9,5 horas para o grupo controle).

Em outro estudo, Romano et al. (1997) observaram redução de até 45% na duração do estro em cabras submetidas à monta por um macho vasectomizado.

Dessa forma, o resultado observado neste estudo encontra-se dentro do esperado, uma vez que a distensão vaginal provocada pelo espéculo, utilizado durante a inseminação, pode ter respondido pela redução na duração do estro após a segunda aplicação de PGF2 α , exatamente os estros acompanhados por inseminações.

As análises estatísticas correspondentes aos dados da Tabela 12 encontram-se no Anexo H.

4.3 - Efeito da categoria reprodutiva sobre a fertilidade das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas

No presente experimento, as categorias reprodutivas foram distribuídas ao acaso, mas uniformemente entre os tratamentos, por reprodutor e por tratamento (Tabela 13).

Verifica-se na Tabela 14, não haver efeito ($P>0,05$) da categoria reprodutiva sobre a taxa de concepção das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C.

Tabela 13 - Distribuição das fêmeas por categoria reprodutiva, por reprodutor e por tratamento

Categoria reprodutiva	Tratamentos				Total
	Tratamento I (12 h)		Tratamento II (24 h)		
	Bode1	Bode2	Bode1	Bode2	
Cabritas	03	02	03	03	11
Cabras Secas	07	07	07	07	28
Cabras Lactantes	04	02	03	05	14
Desconhecida*	00	02	00	00	02
Total	14	13	13	15	55

*Em dois animais foi impossível determinar a categoria reprodutiva (cabrita ou seca).

Tabela 14 - Efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de concepção das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado (considerando-se todas as cabras)

Categoria reprodutiva*	Prenhez (%)		Total (%)
	Positiva	Negativa	
Cabrita	11,32 (06/53)	9,43 (05/53)	20,75 (11/53)
Seca	20,75 (11/53)	32,08 (17/53)	52,83 (28/53)
Lactante	16,98 (09/53)	9,43 (05/53)	26,42 (14/53)
Total	49,06 (26/53)	50,94 (27/53)	100 (53/53)

*Foram retiradas as duas cabras de categoria reprodutiva desconhecida

As taxas de concepção foram de 54,55, 39,29 e 64,29% ($P>0,05$) para as categorias cabritas, cabras secas e lactantes, respectivamente (Tabela 15).

De acordo com vários pesquisadores, o efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de concepção relaciona-se ao grau de dificuldade na transposição da cérvix (Corteel, 1977; Azevedo et al., 1995, 1997 e 1998; Barbosa, 1999).

Tabela 15 - Efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de concepção das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado

Categoria reprodutiva*	Prenhez (%)		Total (%)
	Positiva	Negativa	
Cabrita	54,55 (06/11)	45,45 (05/11)	100% (11/11)
Seca	39,29 (11/28)	60,71 (17/28)	100% (28/28)
Lactante	64,29 (09/14)	35,71 (05/14)	100% (14/14)
Total	49,06 (26/53)	50,94 (27/53)	100 (53/53)

*Foram retiradas as duas cabras de categoria reprodutiva desconhecida.

Corteel (1997) relatou que a taxa de concepção é afetada de maneira proporcional ao grau de dificuldade em transpor a cérvix. De fato, em apenas 15,5% das cabras nulíparas foi possível realizar inseminação intra-uterina ou cervical profunda. Da mesma forma, Ritar e Salamon (1983) também verificaram influência da profundidade da inseminação sobre a taxa de fertilidade.

Por outro lado, apesar das cabras pluríparas apresentarem maior facilidade na transposição cervical, Azevedo et al. (1997) não observaram diferença na taxa de concepção entre nulíparas (31,65%) e pluríparas (32%).

Da mesma forma, Barbosa (1999) não observou influência de categoria reprodutiva sobre a taxa de concepção, obtendo 24,29% de gestação em nulíparas e 37,01% em múltíparas, apesar do maior número de inseminações intra-uterinas ocorrerem em cabras múltíparas.

Azevedo et al. (1998) mencionam que além da maior dificuldade em transpor a cérvix em cabras nulíparas, há também um maior

nível de estresse nesses animais durante as inseminações, o que pode influenciar negativamente na concepção.

Em suínos, e também em outras espécies, a baixa taxa de ovulação observada em nulíparas é um outro fator que influencia significativamente a taxa de concepção.

Em ovinos submetidos à estação de monta natural, o manejo diferenciado das borregas é fundamental para se obter bons índices de fertilidade. O manejo diferenciado baseia-se no fato de as fêmeas nulíparas serem as que recebem menor número de montas, possivelmente, pela dominância hierárquica das fêmeas adultas e/ou pela ausência de manifestação completa dos sinais de cio, dentre outros fatores (Filho e Figueiró, 1994).

Da mesma forma, em programas de inseminação artificial, as fêmeas nulíparas devem receber atenção especial, principalmente devido à maior frequência de estros de curta duração, acompanhados por baixa taxa de ovulação e ovulação tardia (logo após o estro) (Fonseca, 2002). Apesar disso, não foi observada nesse experimento, influência da categoria reprodutiva sobre a taxa de concepção (Tabelas 14 e 15).

As análises estatísticas correspondentes aos dados das Tabelas 13, 14 e 15, encontram-se no Anexo I.

Os dados referentes ao efeito das categorias reprodutivas, agrupadas, sobre a taxa de concepção, encontram-se no anexo J.

4.4 - Efeito do local de deposição do sêmen no trato genital feminino sobre a fertilidade das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas

Observa-se na Tabela 16 a distribuição dos locais de deposição do sêmen no trato genital feminino, durante as inseminações.

Não foi possível avaliar-se o efeito do local de deposição do sêmen sobre a taxa de concepção, uma vez que apenas três animais receberam inseminação intracervical por pinçamento de cérvix (PC-IC) ou inseminação pelo método convencional - intra-uterino (C-IU), o que impossibilitou qualquer análise estatística.

Tabela 16 - Distribuição dos locais de deposição do sêmen no trato genital feminino por tratamento

Local de deposição	Tratamentos		Total
	Tratamento I (12 h)	Tratamento II (24 h)	
PC - IU*	45,45% (25/55)	49,09% (27/55)	94,54% (52/55)
PC - IC*	1,82% (1/55)	0,00% (0/55)	1,82% (1/55)
C - IU*	1,82% (1/55)	1,82% (1/55)	3,64% (2/55)
Total	49,09% (27/55)	50,91% (28/55)	100% (55/55)

*(PC-IU: pinçamento de cérvix - intra-uterino; PC-IC: pinçamento de cérvix - intracervical; C-IU: convencional - intra-uterino)

A facilidade de transposição cervical está relacionada a vários fatores, tais como: fase do ciclo estral em que a fêmea se encontra, variação individual da anatomia cervical, categoria reprodutiva, e habilidade do inseminador, entre outros (Barbosa, 1999).

Varição significativa ($P < 0,05$) foi observada por Barbosa (1999) quanto aos locais de deposição do sêmen no trato genital da fêmea, incluindo relatos de 65,5% (205/313) de inseminações intra-uterinas, 1,92% (06/313) de intravaginais, 20,77% (65/313) de cervicais superficiais, e 11,82% (37/313) de inseminações cervicais profundas.

Da mesma forma, Ritar e Salamon (1983) verificaram que a proporção de cabras em que foi possível realizar-se a inseminação intra-uterina variou de 12 a 53% nos trabalhos realizados. A profundidade da IA influenciou significativamente a taxa de concepção.

O grande número de inseminações intra-uterinas observadas nesse experimento, contrastando com os dados dos pesquisadores acima, demonstram que a inseminação foi realizada em um momento adequado do estro, uma vez que a facilidade em transpor a cérvix relaciona-se diretamente ao grau de sua abertura. Esta, por sua vez, varia em função do período do estro no qual a fêmea se encontra. Não é demais enfatizar o possível efeito aditivo do pinçamento cervical na transposição da cérvix.

Em ovinos, Salamon e Linghtfoot (1967), citados por Mies Filho (1982), verificaram influência do sítio de deposição do sêmen sobre a taxa de concepção, relatando 88% de fertilidade para inseminações intra-uterinas, 31% para inseminações cervicais profundas e de 25% para inseminações cervicais superficiais. Nestes animais, a cérvix apresenta-se mais tortuosa e com abertura insuficiente do canal cervical ao estro, quando comparado à espécie caprina. Tal característica dificulta a deposição intra-uterina do sêmen, o que pode responder pela baixa taxa de concepção em ovinos inseminados. Há que se enfatizar que, com a deposição do sêmen refrigerado no óstio cervical externo, taxas de concepção aceitáveis só são conseguidas à custa de uma maior concentração espermática ou através de dupla inseminação.

Neste sentido, Azevedo et al. (1995) mencionam que quando o número de espermatozoides é limitante, a deposição do sêmen em sítios mais profundos do trato genital feminino incrementa a taxa de concepção.

De acordo com vários pesquisadores, cabras nulíparas apresentam cérvix de difícil visualização e transposição (Corteel, 1977; Azevedo et al., 1995; Barbosa, 1999). Dentro deste contexto, Corteel (1977) observou que em apenas 15,5% das ocasiões foi possível atingir o útero ou a porção cranial do cérvix de nulíparas, valor inferior

ao conseguido em cabras adultas (57,4%). Neste estudo, a taxa de concepção foi afetada de maneira similar.

Observou-se no presente experimento que em 100% (11/11) das nulíparas, e 95,45% (42/44) das múltíparas, a deposição do sêmen foi intra-uterina. As diferenças dos resultados encontrados neste estudo com os relatados na literatura pode ser devido à variação individual na anatomia cervical ou ao momento da inseminação, o qual, embora realizado em um período pré-determinado (12 horas após a detecção do cio), pode ter sofrido variação em função da duração do estro. Assim, é provável que cabras com duração menor do estro tenham sido inseminadas no final ou logo após o estro, período no qual a transposição cervical é mais difícil.

Além disso, a técnica de pinçamento da cérvix utilizada para a inseminação, neste experimento, reduz a dificuldade em transpô-la, uma vez que o tracionamento da cérvix diminui o seu grau de tortuosidade e facilita a sua transposição, o que poderia explicar a alta porcentagem de deposições intra-uterinas de sêmen conseguidas (98,2%). Finalmente, não se deve descartar o treinamento da equipe envolvida nas inseminações.

Apesar das cabras pluríparas apresentarem maior facilidade na transposição cervical, Azevedo et al. (1997) não observou diferenças em relação às taxas de concepção entre nulíparas (31,65%) e pluríparas (32%).

Da mesma forma, Roca et al. (1997) e Paulenz et al. (2005) não observaram diferenças nas taxas de concepção influenciadas pelo local de deposição do sêmen, com taxas de concepção acima de 70% para inseminações cervicais ou intra-uterinas. Porém, para estes pesquisadores, a alta concentração espermática utilizada (120 e 200×10^6) foi responsável pela igualdade dos resultados observados.

Por outro lado, Azevedo et al. (1998) estudando o efeito do refluxo de sêmen, no momento da IA transcervical, sobre a taxa de concepção e prolificidade em cabras, demonstraram ser este fato observado muitas vezes pela dificuldade de passagem do canal cervical. Estes pesquisadores mencionaram que é inevitável o decréscimo no número de espermatozoides disponíveis nos reservatórios espermáticos e no sítio de fertilização, em decorrência do refluxo e perda de espermatozoides para a vagina, diminuindo, dessa forma, a taxa de concepção.

As análises estatísticas referentes aos dados da Tabela 16 encontram-se no Anexo K.

4.5 - Influência do tipo de muco observado durante a inseminação sobre a fertilidade das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas

A distribuição do tipo de muco observado no ato da inseminação encontra-se na Tabela 17, não havendo diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

Esta distribuição foi casual, uma vez que a observação do muco se dava somente no momento da inseminação.

Tabela 17 - Distribuição do tipo de muco observado durante a inseminação entre os tratamentos

Tipo de muco	Tratamentos		Total
	Tratamento I (12 h)	Tratamento II (24 h)	
Cristalino	10,91% (6/55)	12,73% (7/55)	23,64% (13/55)
Cristalino-estriado	1,82% (1/55)	0,00% (0/55)	1,82% (1/55)
Estriado	29,09% (16/55)	30,91% (17/55)	60,00% (33/55)
Estriado-caseoso	3,64% (2/55)	5,45% (3/55)	9,09% (5/55)
Caseoso	3,64% (2/55)	1,82% (1/55)	5,45% (3/55)
Total	49,09% (27/55)	50,91% (28/55)	100% (55/55)

Além disso, as fêmeas já eram previamente distribuídas entre os tratamentos, de acordo com a ordem de início do cio após aplicação da segunda dose de PGF2 α .

A taxa de concepção foi influenciada ($P < 0,05$) pelo tipo de muco observado no momento da inseminação (Tabelas 18 e 19, e Gráfico 1). Além disso, 60% das inseminações foram realizadas quando o muco apresentava-se de aspecto estriado, evidenciando o momento ideal no qual realizaram-se as inseminações.

A observação do muco, e de sua alteração durante o período de cio, pode ser usada para estimar o melhor momento do estro para se realizar a inseminação, uma vez ter havido influência do tipo de muco observado no momento da inseminação e a taxa de concepção das cabras.

Tabela 18 - Efeito do tipo de muco observado durante a inseminação sobre a taxa de concepção das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas (considerando-se todas as cabras)

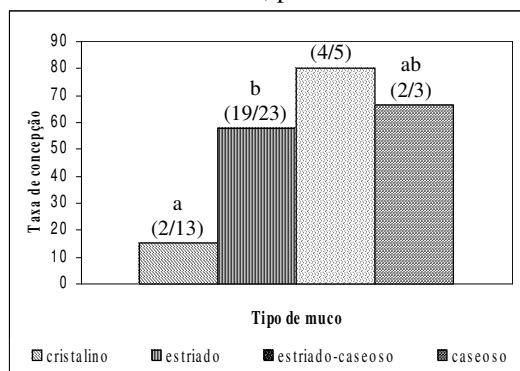
Tipo de muco	Prenhez (%)		Total (%)
	Positiva	Negativa	
Cristalino	3,64 (2/55)	20,00 (11/55)	23,64 (13/55)
Cristalino-estriado	0,00 (0/55)	1,82 (1/55)	1,82 (1/55)
Estriado	34,55 (19/55)	25,45 (14/55)	60,00 (33/55)
Estriado-caseoso	7,27 (4/55)	1,82 (1/55)	9,09 (5/55)
Caseoso	3,64 (2/55)	1,82 (1/55)	5,45 (3/55)
Total	49,09 (27/55)	50,91 (28/55)	100 (55)

Tabela 19 - Efeito do tipo de muco observado durante a inseminação sobre a taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas (por tipo de muco)

Tipo de muco	Prenhez (%)		Total (%)
	Positiva	Negativa	
Cristalino	15,38 (2/13) ^a	84,62 (11/13) ^a	100,00 (13/13)
Cristalino-estriado	0,00 (0/1)	100,00 (1/1)	100,00 (1/1)
Estriado	57,58 (19/33) ^b	42,42 (14/33) ^b	100,00 (33/33)
Estriado-caseoso	80,00 (4/5)	20,00 (1/5)	100,00 (5/5)
Caseoso	66,67 (2/3) ^{ab}	33,33 (1/3) ^{ab}	100,00 (3/3)
Total	49,09 (27/55)	50,91 (28/55)	100,00 (55/55)

^{a,b} médias, na mesma coluna, seguidas de letras distintas, diferem ($P < 0,05$) pelo teste Qui-quadrado.

Gráfico 01 - Efeito do tipo de muco observado durante a inseminação artificial sobre a taxa de concepção das cabras inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, por 12 ou 24 horas



As taxas de concepção obtidas ($P < 0,05$) foram de 15,38%, 57,58%, 66,67%, zero e 80,00%, respectivamente, para os mucos de aspecto cristalino, estriado, caseoso, cristalino-estriado e estriado-caseoso (Tabelas 18 e 19). As análises estatísticas, correspondentes aos dados das Tabelas 17, 18 e 19 e Gráfico 1, encontram-se no Anexo L.

Dessa forma, o melhor momento para se realizar a inseminação é quando o muco apresenta-se estriado e abundante, que corresponde ao terço médio para o final do estro (12-18 horas após o seu início).

Taxas de concepção de 76,2 e 86,4% foram observadas em cabras inseminadas quando o muco cervical apresentava-se com aspecto cristalino e estriado, respectivamente (França, 1981). Entretanto, quando a inseminação é realizada durante a fase em que o muco é de aspecto cristalino, Bonfert (1964), citado por Simplício (1987) recomenda uma segunda inseminação, 12 a 14 horas após a primeira. De fato, apenas 15,38% (3,64% do total) das cabras inseminadas, nesse estudo, apresentando muco cristalino no momento da inseminação, ficaram positivas (Tabelas 18 e 19).

Observa-se nas Tabelas 18 e 19 que apenas nove cabras foram inseminadas apresentando muco de aparência caseosa (três), cristalino-estriada (uma) e estriada-caseosa (cinco). Embora contribuindo com baixo percentual para o total de cabras gestantes (3,64%, zero e 7,27%, respectivamente, na mesma ordem anterior, - Tabela 18), vale a pena uma observação. Há que se enfatizar que as cabras apresentando muco de aparência estriado-caseoso e caseoso responderam, respectivamente, por taxas de concepção de 80% (4/5) e 66,67% (2/3).

De acordo com Ritar (1993), é preferível inseminar os animais um pouco antes (5-10 horas) do que após a ovulação. Ritar et al. (1990b) observaram que os melhores resultados de concepção foram obtidos de inseminações realizadas pré-ovulação (44% para inseminações cervicais e 69,6% para inseminações laparoscópicas). Quando as inseminações foram realizadas após a ovulação, as taxas de concepção foram de 34,2% e 56,7%, respectivamente, para inseminações cervicais e laparoscópicas (Ritar, 1993).

Diante dos dados do presente experimento, enfatiza-se o exame do tipo de muco observado quando da inseminação artificial. Neste contexto, salienta-se a necessidade de nova inseminação, 8 a 12 horas após a

primeira, na presença de muco com aspecto cristalino.

4.6 - Características dos cios naturais e induzidos pela PGF2 α em cabras da raça Toggenburg

Durante o período experimental acompanhou-se 172 cios, dos quais 107 foram induzidos pela PGF2 α e, 65 naturais.

As análises estatísticas referentes aos parâmetros avaliados encontram-se no anexo M.

Observa-se na Tabela 20, no que se refere à duração do intervalo entre cios, que os mesmos foram divididos em: ciclos muito

curtos (<10 dias), ciclos curtos (10-17 dias), ciclos de duração normal (17-24 dias) e ciclos longos (acima de 24 dias).

Em relação à duração do cio, não houve diferença ($P>0,05$) entre os naturais ($38,77 \pm 13,95$ h) e os induzidos ($35,83 \pm 14,47$ h). A duração média total dos cios observados neste experimento foi de $36,94 \pm 14,31$ horas (Tabela 20).

Jarosz et al. (1971), estudando cabras da raça Toggenburg, observaram que a duração média do estro natural foi de quatro dias, período bastante superior ao observado nesse estudo, de apenas $38,77 \pm 13,95$ horas.

Tabela 20 - Características dos cios naturais e induzidos pela PGF2 α em cabras da raça Toggenburg

Parâmetros avaliados	Tipo de cio avaliado		X \pm s
	Cios induzidos	Cios naturais	
Número de cabras	60	34	-
Número total de ciclos	107	65	172
Intervalo PGF2 α – cio (h)	43,37 \pm 15,85 (107)	-	-
Duração do cio (h)	35,83 \pm 14,47 (107)	38,77 \pm 13,95 (65)	36,94 \pm 14,31 (172)
Manifestação do cio			
Manhã (%)	50,47 (54/107)	49,23 (32/65)	50,00 (86/172)
Meio-dia (%)	25,25 (27/107)	21,54 (14/65)	23,84 (41/172)
Tarde (%)	24,30 (26/107)	29,23 (19/65)	26,16 (45/172)
Intervalo de cios (dias)	8,11 \pm 1,72 (47) ^a	13,50 \pm 7,34 (64) ^b	11,21 \pm 6,27 (111)
Distribuição por classe do intervalo de cios			
< 10 dias (%) ¹	93,62 (44/47) ^{aA}	40,63 (26/64) ^{bB}	-
10-17 dias (%) ²	6,38 (3/47) ^{cC}	3,13 (2/64) ^{dD}	-
17-24 dias (%) ³	-	54,69 (35/64) ^{eE}	-
> 24 dias (%) ⁴	-	1,56 (1/64)	-

^{a,b,c,d,e} Médias, seguidas de letras distintas, maiúsculas ou minúsculas, dentro de linhas ou colunas, diferem ($p<0,05$) entre si pelo teste t de Student.

1 = ciclos muito curtos; 2 = ciclos curtos; 3 = ciclos normais; 4 = ciclos com duração acima do normal.

Da mesma forma, resultados superiores aos observados aqui, para cio natural, foram descritos por Simplício et al. (1986), com média de 56,8 horas de duração, em cabras sem raça definida, com variação de 12 a 192 horas. A variação na duração dos cios naturais observada, no presente estudo, foi de 6 a 87 horas.

Possivelmente, a diferença dos resultados encontrados aqui, com os da literatura, deve-se ao contato contínuo das fêmeas com os machos rufiões (três vezes ao dia), uma vez ser este estímulo envolvido no encurtamento da duração do estro.

Além disso, as fêmeas eram alojadas em baias próximas aos machos, o que também pode ter influenciado na duração do estro.

Dessa forma, tanto os estímulos visuais e olfativos quanto o contato físico com os machos, podem ter influenciado, resultando na redução da duração do estro.

Além deste, outros fatores como a localização geográfica, estação do ano, genética e idade das fêmeas podem influenciar na duração do estro.

Neste sentido, Simplício et al. (1986) observaram que o estro teve uma maior duração nos períodos chuvosos (62 horas) em relação aos observados na estação seca (51,2 horas). Neste experimento, não foi possível fazer esta comparação, pois foi estudado somente um período do ano, o outono.

A idade das fêmeas parece não ter influenciado na duração do estro, uma vez serem cabritas, apenas uma minoria (20%) dos animais estudados (Tabela 13).

Da mesma forma, a localização geográfica e a genética dos animais parece não ter influenciado na duração do estro, já que os animais utilizados neste estudo pertencem à uma mesma raça e estavam localizados na mesma região.

A duração média total dos estros induzidos, observada no presente estudo, foi de $35,83 \pm 14,47$ horas (Tabela 20), com durações médias de $40,02 \pm 15,96$ h e $32,24 \pm 12,09$ h após aplicação da primeira e segunda doses de PGF2 α , respectivamente (Tabela 21).

Resultados semelhantes aos encontrados, neste estudo, foram relatados por Prospero (2004) que, utilizando o protocolo de duas aplicações de PGF2 α , intervaladas de 10 dias, observou duração média de cio de $36,00 \pm 27,28$ horas, após a segunda aplicação. Com o protocolo reduzido de sete dias, a duração do estro após aplicação da segunda dose foi de $34,29 \pm 12,83$ horas.

Entretanto, Fonseca (2002) também utilizando um protocolo de duas aplicações de um análogo de prostaglandina (d-cloprostenol), intervaladas de 10 dias, observou que a duração do estro após a segunda aplicação foi menor ($16,2 \pm 10,8$ horas) que a observada após a aplicação da primeira dose de PGF2 α ($31,7 \pm 11,1$ horas). Segundo o mesmo pesquisador, a segunda dose de PGF2 α pode ter coincidido com os estádios de crescimento final do folículo dominante, da primeira onda do ciclo estral, o que pode ter promovido uma resposta diferenciada na duração do estro. Além disso, o contato contínuo com os machos rufiões pode estar envolvido no encurtamento da duração do estro, após a aplicação da segunda dose de PGF2 α .

Há que se enfatizar, entretanto, que a própria maneira de se avaliar a duração do estro pode ter contribuído para as variações observadas na literatura. No presente estudo, a avaliação do comportamento sexual foi realizada três vezes ao dia (6:00, 12:00 e 18:00 horas). Assim, se o cio iniciou-se às 6:00 horas da manhã, considerou-se como início real do cio o intervalo médio entre a última não aceitação e a primeira aceitação de monta, ou seja, às 00:00 horas. Da mesma forma, considerou-se como final real do cio o intervalo médio entre a última aceitação e a primeira não aceitação de monta. Assim, se a última aceitação deu-se às 12:00 horas e a primeira não aceitação às 18:00 horas, provavelmente o término real do cio tenha se dado no intervalo médio, ou seja, às 15:00 horas. Com certeza, muitas das diferenças observadas na literatura devem-se às diferentes formas de se considerar o início e final do cio.

Do total de cios estudados, aproximadamente 50% foram manifestados pela manhã (6:00 horas) e, a outra metade, manifestado de forma proporcional durante o restante do dia (23,84% ao meio dia e 26,16% à tarde – Tabela 20).

Além disso, observa-se na Tabela 20 que o tipo de cio (natural ou induzido) não influenciou ($P>0,05$) a distribuição dos cios ao longo do dia (6:00, 12:00 e 18:00 horas).

Diferentemente do que se observou aqui, Fonseca et al. (2005), estudando a indução de cio com progestágenos e uma frequência de rufiação três vezes ao dia, observaram que 84,8% dos cios manifestam-se pela manhã (6:00 horas), 6,1% ao meio dia e 9,1% à tarde (18:00 horas). Possivelmente, neste experimento, o momento de retirada da esponja tenha influenciado o horário de manifestação do cio.

As falhas na identificação do cio são causas em potencial de subfertilidade de um rebanho. Em cabras, a detecção do cio deve ser realizada de maneira criteriosa retirando-se da baía as fêmeas em cio, de forma a reduzir os efeitos da hierarquia dentro do grupo sobre a manifestação do estro nos outros animais do mesmo lote. Além disso, é essencial a separação de lotes de acordo com a faixa etária, tendo em vista que as cabritas, na presença de fêmeas adultas, podem não manifestar completamente os sinais de cio.

A detecção adequada do cio é de importância primordial para a eleição do melhor momento para a inseminação. Baseando-se na distribuição do período de manifestação do cio durante o dia observado neste estudo e no conduzido por Fonseca et al. (2005), nota-se a importância da rufiação frequente, de pelo menos duas vezes ao dia. Além disso, deve ser respeitado um período mínimo de permanência do rufião em contato com as fêmeas, além do revezamento contínuo dos machos. Vale salientar ainda, um mínimo de intervenção humana possível, para que haja manifestação completa do cio.

O intervalo médio total entre os cios apresentou valor muito baixo (11,21 dias \pm 6,27), caracterizando os ciclos estrais estudados como de curta duração. Apesar

desto, o intervalo médio entre cios foi menor ($8,11 \pm 1,72$ dia; $P<0,05$) nos cios induzidos quando comparados aos naturais ($13,50 \pm 7,34$ dias). Realmente, era de se esperar que a indução do cio proporcionasse maior número de ciclos estrais muito curtos (93,62% menores de 10 dias). Por outro lado, nos cios naturais, a maioria dos ciclos (54,69%) apresentou-se como de duração normal (Tabela 20).

De acordo com Gordon (1997), cerca de 77% dos ciclos estrais são normais (17-25 dias), 14% são curtos (<17 dias) e 9% longos (>25 dias). No entanto, vários autores observaram uma frequência de ciclos curtos de 8,33 a 79% (Nishikawa et al., 1963; Prasad, 1979; Gonzáles et al., 1982; Simplício et al., 1982, citados por Cerbito et al. 1995). Além disso, observa-se uma maior frequência de ciclos curtos com duração de 5-8 dias (Camp et al., 1983 – 44%; Chemineau, 1986 – 45%).

A alta frequência de ciclos estrais curtos parece ser uma característica da espécie caprina, observada por vários pesquisadores (Corteel, 1973; Prasad, 1979; Chemineau, 1983; Simplício et al., 1986; Cerbito et al., 1995; Menchaca e Rubianes, 2002). De fato, observou-se neste estudo 43,76% de ciclos estrais de duração muito curta (< 10 dias) e curta (10-17 dias), em cios naturais (Tabela 20).

Os mecanismos associados com a ocorrência de ciclos curtos incluem: inadequado desenvolvimento do folículo pré-ovulatório, com formação de um corpo lúteo de vida curta; redução do suporte luteotrófico, com diminuição da secreção de P4; ou liberação prematura de prostaglandina. Em geral, a maioria dos CL inadequados que ocorrem naturalmente em ruminantes é os de vida curta, sendo aqueles com reduzida secreção de P4 normalmente resultado de ovulações induzidas (Garverick e Smith, 1986).

Como revisto por Hunter (1991), vários estudos têm sugerido que corpos lúteos de vida curta, em ovelhas e vacas, podem resultar de um inadequado desenvolvimento folicular.

Vários estudos têm relatado baixa concentração de E2 no plasma ou no fluido folicular de vacas e ovelhas que possuíam CL de vida curta. Além disso, baixo número de receptores foliculares para LH/hCG, nas células da granulosa e da teca dos folículos pré-ovulatórios tem sido observado em vacas e ovelhas com corpos lúteos de curta duração (Garverick et al., 1992).

Da mesma forma, White et al. (1985) observaram que um maior número de receptores para LH e/ou maior secreção de estradiol são requeridos para que o folículo se torne um CL funcional, com vida útil normal.

Assim, pode-se inferir que a indução do estro pela PGF2 α , realizada neste estudo, pode ter sido responsável pela ovulação de um folículo ainda em desenvolvimento, com subsequente formação de um corpo lúteo de vida curta, sendo este fato responsável pela elevada ocorrência de ciclos estrais de curta duração.

Além destes, outros fatores podem estar associados à ocorrência de ciclos estrais curtos. Assim, Garverick et al. (1992) sugerem que o CL de vida curta está associado à liberação prematura de PGF2 α do útero. Zollers et al. (1992) relataram que a concentração de receptores de oxitocina no endométrio é maior no dia cinco em vacas com CL de curta duração. Adicionalmente, Hunter (1991) relatou que a concentração de receptores endometriais de oxitocina é alta nos dias 1, 3 e 5 em ovelhas com fase lútea curta.

Também observou-se que a concentração de PGF2 α venosa foi maior nos dias 4-9 seguintes à primeira ovulação, em vacas tendo um CL de curta duração, em relação àquelas apresentando uma fase lútea normal. Da mesma forma, concentrações plasmáticas de metabólitos de PGF2 α aumentam a partir dos dias 3-5 em ovelhas em que se espera observar fase lútea curta. O mecanismo pelo qual o período de secreção de PGF2 α é adiantado, durante um ciclo curto, não está claro (Garverick et al., 1992).

Cabras não submetidas à tratamentos hormonais e que se encontram em plena atividade reprodutiva podem também manifestar ciclos de curta duração, principalmente, devido ao crescimento folicular e ovulação no ovário contralateral, cinco a 10 dias após o estro (Prasad, 1979; Cerbito et al., 1995). Além disso, de acordo com Chemineau (1986) ciclos curtos, mas de duração idêntica, podem estar associados à presença do macho.

Os fatores acima mencionados podem estar envolvidos na ocorrência significativa (43,76%) de ciclos estrais de curta duração, observados nas cabras com cio natural. Além disso, a grande proporção de ciclos estrais de duração muito curta (< 10 dias), observada neste experimento, foi influenciada, sem dúvida, pela intervenção com as aplicações de PGF2 α , nas cabras com cios induzidos (93,62% - Tabela 20).

4.7 - Características dos cios naturais e induzidos, inseminados ou não

Os dados correspondentes aos cios induzidos não inseminados referem-se aos oriundos da primeira aplicação de PGF2 α , enquanto que os cios inseminados são aqueles induzidos após a segunda aplicação de prostaglandina (Tabela 21).

Tabela 21 - Características dos cios naturais e induzidos, inseminados ou não

Parâmetros avaliados	Tipo de cio			Total
	Cios induzidos		Cios naturais	
	Inseminados	Não inseminados		
Nº de cabras	55	51	34	-
Nº total de ciclos	55	53	64	172
Intervalo PGF2 α – cio (h)	45,67 \pm 9,28 (54) ^a	41,04 \pm 20,32 (53) ^b	-	-
Duração do cio (h)	32,24 \pm 12,09 (55) ^b	40,02 \pm 15,96 (53) ^a	38,44 \pm 13,80 (64) ^a	-
Manifestação do cio				
Manhã (%)	49,09 (27/55)	52,83 (28/53)	48,44 (31/64)	50,00
Meio dia (%)	23,64 (13/55)	24,53 (13/53)	23,44 (15/64)	23,84
Tarde (%)	27,27 (15/55)	22,64 (12/53)	28,13 (18/64)	26,16
Intervalo de cios (dias)	8,17 \pm 1,69 (46) ^a	-	13,67 \pm 7,29 (63) ^b	-
Distribuição por classe do intervalo de cios				
< 10 dias (%) ¹	93,48 (43/46) ^{aA}	-	40,32 (25/62) ^{Bb}	-
10-17 dias (%) ²	6,52 (3/46) ^{Cc}	-	3,23 (2/62) ^{dD}	-
17-24 dias (%) ³	-	-	56,45 (35/62) ^{Ee}	-
> 24 dias (%) ⁴	-	-	-	-

^{a,b,c,d,e} Médias, acompanhadas por letras diferentes, maiúsculas ou minúsculas, dentro de colunas ou linhas, diferem ($p < 0,05$) entre si pelo teste SNK.

1=ciclos muito curtos; 2=ciclos curtos; 3=ciclos normais; 4=ciclos com duração acima do normal.

As análises estatísticas, correspondentes aos dados da Tabela 21, encontram-se no Anexo N.

No total, ao longo do experimento foram inseminadas 55 cabras e, portanto, avaliados 55 ciclos induzidos e acompanhados por inseminação. Vale salientar que uma cabra foi inseminada em cio natural, o que justifica a diferença entre o número de ciclos estudados e o número de intervalos PGF2 α -cio ($n=54$). Da mesma forma, o número de intervalo entre cios e a distribuição por classe do intervalo entre cios apresenta um número de dados inferior devido à ausência de valores de algumas cabras (Tabela 21).

Dos 64 cios naturais avaliados, 62 foram utilizados na distribuição por classe do intervalo de cios, para as análises estatísticas.

Um ciclo de duração muito longa foi eliminado. Além disso, em uma cabra não se

observou um intervalo de cios. A ausência destes dois animais explica a diferença observada entre o número de ciclos da Tabela 21 em relação às anteriores (Tabelas 11, 12 e 20).

Na Tabela 21, observa-se que o intervalo entre a aplicação da PGF2 α e o início do cio foi maior ($45,67 \pm 9,28$ horas; $P < 0,05$) para os cios induzidos e inseminados (2^a aplicação de PGF2 α) quando comparados aos induzidos não inseminados (1^a aplicação de PGF2 α ; $41,04 \pm 20,32$ horas).

Resultados numericamente similares aos obtidos aqui foram observados por Fonseca (2002), que obteve $44,5 \pm 15,9$ e $49,9 \pm 11,9$ horas ($P > 0,05$) de intervalo da primeira e segunda aplicação de PGF2 α ao início do cio, respectivamente.

Contrariamente, Ott et al. (1980a) também utilizando um protocolo de duas doses de PGF2 α , intervaladas de 11 dias, observaram

que os animais manifestaram estro num período de 54 ± 3 horas após a aplicação da primeira dose de prostaglandina, e 52 ± 3 horas após a segunda aplicação.

Intervalos mais longos do que os observados neste estudo foram relatados por Goel e Agrawal (1998) que obtiveram $71,3 \pm 5,7$ e $65,3 \pm 4,2$ horas de intervalo da primeira e segunda aplicações de PGF2 α e o início do cio, respectivamente.

A variabilidade de resposta à PGF2 α pode ser atribuída à diferença na condição ovariana entre cabras quando do tratamento. Dessa forma, se o tratamento foi realizado durante o início do ciclo estral, o intervalo da aplicação da PGF2 α e o início do estro será mais curto que aqueles observados quando o tratamento é realizado mais tardiamente (Monggo, 1987; Menchaca e Rubianes, 2004). De acordo com Houghton et al. (1995), quando o CL encontra-se completamente funcional, o tempo necessário para haver redução da concentração de P4 é maior, o que aumentaria o intervalo da aplicação da prostaglandina e o aparecimento do cio. Por outro lado, necessita-se de um menor tempo para diminuir a concentração de P4 a níveis basais, quando a prostaglandina é administrada durante o início da fase luteal.

Neste sentido, Nuti et al. (1992) observaram intervalos médios da aplicação da PGF2 α e o início do cio de $46 \pm 3,9$ horas e $48 \pm 1,7$ horas ($P < 0,05$) para aplicações nos dias 6 e 12 do ciclo estral, respectivamente.

Adicionalmente, a condição folicular de cada animal, no momento da administração da prostaglandina, pode também responder pela variabilidade na resposta aos tratamentos com PGF2 α . Se um folículo grande, em crescimento, está presente no momento do tratamento, haverá um desenvolvimento rápido e contínuo do mesmo, acompanhado por estro e ovulação em um curto período de tempo após a

administração da PGF2 α . Contudo, se a luteólise for induzida quando o maior folículo da onda estiver em regressão, um novo folículo precisa emergir e crescer. Neste caso, o estro e ovulação podem ocorrer mais tardiamente (Menchaca e Rubianes, 2004).

Tem sido observado que o estro e a ovulação ocorrem em torno de dois a quatro dias após a aplicação da primeira dose de PGF2 α , quando, simultaneamente, é recrutada a nova onda folicular. Assim, quando da administração da segunda dose de PGF2 α , no 10^o dia do ciclo, o folículo dominante já teria entre 6-8 dias de idade. Tendo em vista que o folículo cresce por 5-7 dias (Menchaca e Rubianes, 2004), pode-se supor que a segunda aplicação de PGF2 α coincide com a regressão do folículo da primeira onda, oriundo da primeira aplicação de PGF2 α . Este fato justificaria o maior intervalo observado na segunda aplicação de PGF2 α , em relação à primeira.

Vale ressaltar que, apesar do intervalo da segunda aplicação de PGF2 α ao início do cio ser maior ($P < 0,05$) que o da primeira aplicação, observa-se uma maior sincronia na resposta após a segunda aplicação. Assim, os intervalos mínimos e máximos após a primeira e segunda dose de PGF2 α foram de 6 a 111 horas e de 21 a 78 horas, respectivamente (Tabela 25 e Anexo N).

A duração do estro foi menor ($32,24 \pm 12,09$ horas; $P < 0,05$) para os cios induzidos e acompanhados por inseminações quando comparados aos cios não inseminados ($40,02 \pm 15,96$ horas) e aos cios naturais ($38,44 \pm 13,80$ horas), embora não houvesse diferença ($P > 0,05$) entre os dois últimos tipos de cios. Neste sentido, também Fonseca (2002) trabalhando com protocolo envolvendo duas aplicações de análogo de prostaglandina (d-cloprostenol), intervaladas de 10 dias, observou que a duração do estro, após a segunda aplicação, foi menor ($16,2 \pm 10,8$ horas; $P < 0,05$) que a duração

do estro, após a primeira dose de PGF2 α (31,7 \pm 11,1 horas).

Por outro lado, Romano (1994) observou influência da monta, da estimulação mecânica da vagina por um pênis artificial, e da deposição de fluido das glândulas sexuais acessórias sobre a duração do estro. A monta e a estimulação mecânica da vagina reduziram significativamente a duração do estro (22,8 \pm 5,0 horas e 27,6 \pm 6,8 horas, respectivamente vs 42,0 \pm 9,5 horas – grupo controle).

Em outro estudo, Romano et al. (1997) observaram redução de até 45% na duração do estro em cabras que foram submetidas à monta por um macho vasectomizado.

Diante dos resultados apresentados anteriormente, conclui-se que o encurtamento do estro é causado pelo contato mecânico do pênis com o fórnix vaginal, já que não houve diferença da monta com penetração e ejaculação, em relação à monta com penetração de um pênis artificial.

Uma vez que os cios induzidos e inseminados (Tabela 21) correspondem aos observados após a segunda aplicação de PGF2 α , os resultados do presente experimento encontram-se dentro do esperado. A distensão vaginal provocada pelo espéculo utilizado durante a inseminação, o estímulo cervical provocado pelo cateter no ato da inseminação, e a deposição de fluido das glândulas acessórias junto com o sêmen não lavado podem ter provocado redução da duração do cio, como proposto anteriormente por Romano (1994).

Outros parâmetros como a percentagem de manifestação do cio ao longo do dia, intervalo de cios e distribuição por classe do intervalo de cios, apresentaram resultados semelhantes aos descritos na Tabela 20.

5. CONCLUSÕES

- O sêmen caprino manteve habilidade fecundante por 24 horas quando resfriado a 5°C, após diluição em diluidor com 2,5% de gema de ovo;
- O estro foi eficientemente sincronizado por meio de duas aplicações de prostaglandina, intervaladas de 10 dias;
- Não houve influência da categoria reprodutiva sobre a taxa de prenhez;
- O tipo de muco, observado durante a inseminação, influenciou a taxa de concepção;
- As taxas de concepção associadas ao protocolo aqui aplicado comprovaram a eficiência do container para o resfriamento do sêmen caprino.

6. PROPOSTAS PARA O FUTURO

- Referendar os resultados obtidos resfriando-se o sêmen e utilizando-o após diferentes tempos de estocagem, superiores a 24 horas;
- Transportar o sêmen resfriado para diferentes granjas e avaliar o seu comportamento, quanto às taxas de concepção;
- Realizar um experimento “in vitro”, nas mesmas circunstâncias de armazenamento e mensurar as possíveis alterações nas características físicas e morfológicas das células espermáticas provocadas pelo resfriamento;
- Reinseminar as fêmeas 12 horas após a primeira inseminação e avaliar o efeito aditivo da segunda inseminação, notadamente na presença de muco cristalino na primeira inseminação;

- Avaliar o efeito de diferentes concentrações espermáticas e a sua relação com o número de inseminações artificiais;
- Avaliar, com mais profundidade, o melhor número de espermatozoides por ml de sêmen diluído, quando da estocagem do sêmen por vários períodos de tempo, a baixas temperaturas (5°C).

7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACRITOPLOULOU, S.; HARESING, W. Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF-2 α given at different stages of the oestrus cycle. *J. Reprod. Fert.*, v. 58, n. 1, p. 219-223, 1980.
- ALI, A.; AHMAD, K.M.; GONDAL, K.Z. Effects of different levels of egg yolk and glycerol on cryopreservation of ram semen and conception rate in ewes. *Pak. Vet. J.*, v.14, n. 3, p.163-167, 1994.
- ALILA, H.W.; HANSEL, W. Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies. *Biol. Reprod.*, v.31, n. 4, p. 1015-1025, 1984.
- ALMQUIST, J.O.; AMANN, R.P. Reproductive capacity of dairy bulls. II-Gonadal and extra-gonadal sperm reserves as determined by direct counts and depletion trials, dimensions and weight of genitalia. *J. Dairy Sci.*, v. 44, n .9, p. 1668-1678, 1961.
- ALVAREZ, R.H.; MEIRELLES, C.F.; AMBROSANO, G.M.B.; OLIVEIRA, J.V.; POZZI, J.R. The use of lower doses of the prostaglandin analogue, cloprostenol, for oestrus synchronization in heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 25, n. 2, p.93-96, 1991.
- AMANN, R.P.; PICKETT, B.W. Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *Equine Vet. Sci.*, v. 7, n. 3, p. 145-173, 1987.
- AMOAHA, E.A.; GELAYE, S. Control of reproduction in the goat. In: PROC. GOAT PRODUCT. SYMP. 1990, Fort Valley:Proc... Fort Valley:1990. p. 51.
- AMOAHA, E.A.; GELAYE, S. Biotechnological advances in goat reproduction. *J. Anim. Sci.*, v. 75, n. 2, p. 578-585, 1997.
- ANDERSEN, K. Insemination with frozen semen in goats. *European Ass. Anim. Prod. Meeting*, n. 2, p. 23-26, 1969.
- ARMSTRONG, D.T.; KIEHM, D.J.; WARNES, G.M. et al. Corpus luteum (CL) failure and embryonic loss in superovulated goats. *Theriogenology*, v.27, n.1, p. 207, 1987 (abstract).
- ARMSTRONG, D.T.; PFITZNER, A.P.; SEAMARK, R.F. Ovarian responses and embryo survival in goats following superovulation and embryo transfer. *Theriogenology*, v.17, n. 1, p. 76, 1982 (abstract).
- ARMSTRONG, D.T.; PFITZNER, A.P.; WARNES, G.M. et al. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *J. Reprod. Fert.*, v. 67, n. 1, p. 403-410, 1983.
- ATREJA, S.K.; ANAND, S.R. Phospholipase and lysophospholipase activities of goat spermatozoa in transit from the caput to the cauda epididymis. *J. Reprod. Fert.*, v.74, n. 2, p.687-691, 1985.
- AUSTIN, E.J.; MIHM, M.; RYAN, M.P. et al. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.*, v. 77, n. 8, p. 2219-2226, 1999.
- AZAWI, O.I.; AL-DAHASH, S.Y.A.; JUMA, F.T. Effect of different diluents on Shami goat semen. *Small Rum. Res.*, v. 9, n. 4, p. 347-352, 1993.

- AZEVEDO, H.C.; MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Franqueamento cervical e taxa de concepção em cabras Moxotó inseminadas artificialmente com diferentes doses inseminantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, 1995; Belo Horizonte. *Anais...*Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1995. p.333-333.
- AZEVEDO, O.I.; MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Influência do genótipo, da condição reprodutiva e do inseminador no desempenho e na fertilidade da inseminação artificial transcervical em cabras leiteiras. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.21, n. 2, p.145-148, 1997.
- AZEVEDO, O.I.; SIMPLÍCIO, A.A.; MACHADO, R. Influência do refluxo da dose inseminante sobre a fertilidade de cabras moxotó inseminadas artificialmente. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998; Botucatu. *Anais...*Botucatu: SBZ, 1998. p.129-131.
- AZEVÊDO, D.M.M.R.; TONIOLLI, R. Avaliação *in vitro* do sêmen de caprinos do tipo racial Marota diluído em água de coco estabilizada com antibióticos e leite desnatado adicionado de ácido 3-indolacético (IAA). *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.24, n.4, p.187-193, 2000.
- BAIRD, D.T. Pulsatile secretion of LH and ovarian estradiol during the follicular phase of the sheep estrous cycle. *Biol. Reprod.*, v.18, n. 3, p. 359-364, 1978.
- BAIRD, D.T. Luteotropic control of the corpus luteum. *Anim. Reprod. Sci.*, v.28, n. 1-4, p. 95-98, 1992.
- BAIRD, D.T.; SWANSTON, I.; SCARAMUZZI, R.J. Pulsatile release of LH and secretion of ovarian steroids in sheep during the luteal phase of the estrous cycle. *Endocrinology*, v.98, n.6, p. 1490-1496, 1976.
- BARBOSA, L. P. *Avaliação de diferentes diluentes e métodos de congelamento de sêmen, em programas de inseminação artificial em caprinos da raça Alpina*. 1999, 71.f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Viçosa.
- BARIL, G.; LEBOEUF, B.; SAUMANDE, J. Synchronization of estrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*, v. 45, n. 8, p.1553-1559, 1993.
- BECK, N. F. G.; DAVIES, B.; WILLIAMS, S. P. Oestrous synchronization in ewes—the effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen treatment. *Anim. Prod.*, v. 56, n. 2, p. 207-210, 1993.
- BONFERT, A. Experiences dans L'insemination des chevres avec du sperm congelé. *Elev. Insem.*, v. 83, n. 1, p. 3-6, 1964.
- BORGOHAIN, A.C.; DEKA, B.C.; RAJKONWAR, C.K. Preservation of buck semen. *Indian Vet. J.*, v. 62, n. 1, p. 81-82, 1985.
- BRETZLAFF, K.N.; ANDREA HILL, B.S.; OTT, R.S. Induction of luteolysis in goats with prostaglandin F_{2α}. *Am. J. Vet. Res.*, v. 44, n.6, p. 1162-1164, 1982.
- BRETZLAFF, K.N.; OTT, R.S.; WESTON, P.G. et al. Doses of prostaglandin F_{2α} effective for induction of estrus in goats. *Theriogenology*, v. 16, n.5, p. 587-591, 1981.
- BURGER, J.F. Sex physiology of pigs. *J. Vet. Res.*, v. 25, Suppl. 2, p. 1-248, 1952.

- CAMP, J.C.; WILD, D.E.; HOWARD, P.K. et al. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biol. Reprod.*, v. 28, n. 3, p. 673-681, 1983.
- CAMPOS, A.C.N.; NUNES, J.F.; MONTEIRO, A.W.U. et al. Conservação do sêmen caprino a 4°C durante o período seco e chuvoso no Nordeste do Brasil. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.27, n.4, p.620-624, 2003.
- CERBITO, W.A.; NATURAL, N.G.; AGLIBUT, F.B. et al. Evidence of ovulation in goats (*Capra hircus*) with short estrous cycle and its occurrence in the tropics. *Theriogenology*, v. 43, n. 4, p. 803-812, 1995.
- CHAUHAN, M.S.; ANAND, S.R. Effect of egg yolk lipids on the freezing of goat semen. *Theriogenology*, v. 34, n.5, p.1003-1013, 1990.
- CHEMINEAU, P. Effect on oestrus and ovulation of exposing creole goats to the male at three times of the year. *J. Reprod. Fert.*, v. 67, n. 1, p. 65-72, 1983.
- CHEMINEAU, P. Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. I-Female oestrus behaviour and ovarian activity. *Repro. Nutr. Develp.*, v.26, n.2, p. 441-452, 1986.
- CHEMINEAU, P.; LEVY, F.; THIMONIER, J. Effects of anosmia on LH secretion, ovulation and oestrus behaviour induced by males in the anovular Creole goat. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 10, n. 2, p. 125-132, 1986.
- COLAS, G.; GUERIN, Y. L'insemination artificielle chez les ovins: acquisitions et perspectives. In: JOURNEES DE LA RECHERCHE OVINE ET CAPRINE, 5. 1980, Paris. *Annais...*Paris:1980. p. 162-184.
- CORTEEL, J.M. Viabilité de spermatozoides de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma séminal: effet du glucose. *Annales de Biologie Animal, Biochimie et Biophysie*, v.14, n.4-B, p.741-5, 1974.
- CORTEEL, J.M. L'insemination artificielle caprine. *Bull. Téchn. D'inform.*, v. 257, n. 1, p. 1-4, 1971.
- CORTEEL, J.M. Viability of goat spermatozoa deep frozen with or without seminal plasma, glucose effect. *Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, v.14, n. 4, p.741-745, 1974.
- CORTEEL, J.M. Production, storage and insemination of goat semen. In: SYMPOSIUM OF MANAGEMENT OF REPRODUCTION IN SHEEP AND GOATS, 1977. Madison. *Proc...*Madison: University of Wisconsin, p.41-57, 1977.
- CORTEEL, J.M. Variations de la motilité et de la fécondance des spermatozoides de bouc. *Ann. Zootech.*, v. 25, n. 4, p. 567-571, 1976.
- CORTEEL, J.M. Collection, processing and artificial insemination of goat semen. In: GALL, C. (Ed). *Goat Production*. London: Academic Press, p. 171-191, 1981.
- CORTEEL, J.M.; BARIL, G.; LEBOEUF, B. Residual seasonal variations in fertility in selected deep-frozen ejaculates of European dairy male goats. In: 9TH INTERNATIONAL CONGRESS ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 1980, Madrid. *Proc...*Madrid:1980. v. 5, p. 422-425.
- CORTEEL, J.M.; BARIL, G.; LEBOEUF, B. Development and application of artificial insemination with deep frozen semen and out-of season breeding of goats in France. In: 4TH INT. CONF. GOATS., 1987, Brasília. *Proc...*Brasília:1987. v. 1, p. 523-547.

- CORTEEL, J.M.; BARIL, G.; LEBOEUF, B. et al. Goat semen technology. In: COUROT, M. (Ed). *The male in farm animal reproduction*. London: Martins Nijhoff Publishers, p.237-256, 1984.
- CORTEEL, J.M.; LEBOEUF, B. Evolution technico-economique de l'insemination artificielle caprine. *Elev. Insem.*, v. 237, n. 1, p. 3-17, 1990.
- CORTEEL, J.M.; LEBOEUF, B.; BARIL, G. Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Rum. Res.*, v.1, n. 1, p.19-35, 1988.
- CORTEEL, J.M.; PAQUINON, M. Preservation of the male gamete (ram, buck, boar). In: 10TH INTERNATIONAL CONGRESS ANIMAL REPRODUCTION AND ISEMINATION ARTIFICIAL, 1984, Illinois. *Proc...Illinois*:1984, p. 20-27.
- COSTA, S.A. da; FRANÇA, M.P.; VINHA, N.A. Inseminação artificial em cabras nativas, com sêmen congelado, após sincronização do cio com prostaglandina F2 α . *Arq. Esc. Vet. UFMG*, v.34, n.2, 278-277, 1982.
- DAUZIER, L. *Artificial insemination in the goat*. London: Dalling, 1966. p. 269-271.
- DAUZIER, L. Quelques resultants sur l'insémination artificielle des brebis et des chèvres en France. In: 3RD INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 1956, Cambridge. *Proc...Cambridge*:1956, v. 3, p. 12-14.
- DAVIS, J.S.; MAY, J.V.; KEEL, B.A. Mechanisms of hormone and growth factor action in the bovine corpus luteum. *Theriogenology*, v. 45, n. 7, p. 1351-1380, 1996.
- DE CASTRO, T.; RUBIANES, E.; MENCHACA, A. et al. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology*, v. 52, n. 3, p. 399-411, 1999.
- DEKA, B.C.; RAO, A.R. Effect of extenders and thawing methods on post thawing preservation of goat semen. *Ind. Vet. J.*, v.64, n. 7, p.591-594, 1987.
- DEN DAAS, N. Laboratory assessment of semen characteristics. *Anim. Reprod. Sci.*, v.28, n.1, p. 87-94, 1992.
- DENAMUR, R.; MARTINET, J.; SHORT, R.V. Secretion of progesterone by corpus luteum of the ewe after hypophysectomy, pituitary stalk secretion, and hysterectomy. *Acta Endocrinol.*, v. 52, n. 1, p. 72-90, 1966.
- DRION, P.V.; FURTOSS, V.; BARIL, G. et al. Four years of induction/synchronization of estrus dairy goats: effect on the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.*, v. 41, n. 6, p. 401-412, 2001.
- DUNNER, S. Freezing buck semen diluted in amine-organic buffers. *Anim. Prod.*, v.56, n. 3, p.387-391, 1993.
- EPPLESTON, J.; POMARES, C.C.; STOJANOV, T. et al. *In vitro* and *in vivo* fertility of liquid stored goat spermatozoa. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.*, v. 26, n. 1, p. 111, 1994.
- EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. *Salamon's artificial insemination of sheep and goats*. Australia: Butterworths Pty Limited, 1987. 194 p.
- FARIN, C.E.; MOELLER, C.L.; MAYAN, H. et al. Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin on cell populations in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.*, v. 38, n. 2, p. 413-421, 1988.
- FIELDS, M. J.; FIELDS, P. A. Morphological characteristics of the bovine

corpus luteum during the estrous cycle and pregnancy. *Theriogenology*, v. 45, n. 7, p. 1295-1325, 1996.

FONSECA, J.F. *Controle e perfil hormonal do ciclo estral e performance reprodutiva de cabras Alpinas e Saanen*. 2002. 122 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.

FONSECA, J.F.; BRUSCHI, J.H.; SANTOS, I.C.C. et al. Induction of estrus in non-lactating dairy goats with different estrous synchrony protocols. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 85, n. 1-2, p. 117-124, 2005.

FORTUNE, J.E.; RIVIERA, G.M.; YANG, M.Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 82-83, p. 109-126, 2004.

FOUGNER, J.A. Uterine insemination with frozen semen in goats. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 1976, Cracow. *Proc...Cracow:1976*. v.1, p.987-990.

FRANÇA, M.P. *Inseminação artificial com sêmen congelado de caprino no sertão do estado de Pernambuco*. 1981. 59 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense.

FREITAS, V.J.F.; BARIL, G.; SAUMANDE, J. Estrus synchronization in dairy goats: use of fluorogestone acetate vaginal sponges or norgestomet ear implants. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 46, n. 3-4, p. 237-244, 1997.

GARCIA-WINDER, M.; LEWIS, P.E.; DEEVER, D.R. et al. Endocrine profiles associated with life span of induced corpora lutea in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.*, v.62, n. 5, p. 1353-1362, 1986.

GARVERICK, H.A.; PARFET, J.R.; LEE, C.N. et al. Relationship of pre-and post-ovulatory gonadotropin concentrations to subnormal luteal function in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.*, v.66, n. 1, p. 104-111, 1988.

GARVERICK, H.A.; SMITH, M.F. Mechanisms associated with subnormal luteal function. *J. Anim. Sci.*, v. 62, suppl. 2, p. 92, 1986.

GARVERICK, H.A.; ZOLLERS, W.G.; SMITH, M.F. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 28, n. 1-4, p. 111-124, 1992.

GINTHER, O. J.; KOT, K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*, v. 42, n. 6, p. 987-1001, 1994.

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M.C.; FRICHE, P.M. et al. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.*, v. 55, n. 6, p. 1187-1194, 1996.

GOEL, A.K.; AGRAWAL, K. Oestrus synchronization in cyclic goats following luteal administration. *Indian J. Anim. Sci.*, v. 68, n. 2, p. 155-156, 1998.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo - SP: Varela 2001. 303p.

GONZÁLEZ-STAGNARO, C. Control hormonal del ciclo estral en cabras criollas 2. Inseminación artificial y reproducción programada. *Vet. Zoot.*, v. 26, n. 1, p. 25-55, 1974.

GONZÁLEZ-STAGNARO, C. Inseminação artificial em cabras com sêmen congelado. *Zootecnia*, v.24, n. 3/4, p. 151-163, 1975.

- GONZALES, S.C.; BURY, N.N. Sexual season and estrous cycle of native goats in a tropical zone of Venezuela. In: INTERNATIONAL CONFERENCE GOAT PRODUCTION AND DISEASE. 3, 1982, Tucson. *Proc....Tucson:1982*, p. 311 (abstract).
- GORDON, I. *Controlled reproduction in sheep and goats*. Cambridge UK:University Press, p. 351-373, 1997.
- GORDON, D. N.; JUENGEL, J. L.; SILVA, J. P. et al. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiology Review*, v. 80, n. 1, p. 1-29, 2000.
- HAWK, H.W.; CONLEY, H.H. Investigation of sperm transport failures in ewes administered synthetic progestagen. *J. Anim. Sci.*, v. 34, n.4, p. 609-613, 1972.
- HEMSWORTH, P.H.; WINFIELD, C.G.; TILBROOK, A.J. et al. Habituation to boar stimuli: possible mechanism responsible for reduced detection rate of oestrus gilts housed adjacent to boars. *App. Anim. Behav. Sci.*, v. 19, n. 3-4, p. 225-264, 1988.
- HOLT, W.V.; NORTH, R.D. Determination of lipid components and thermal phase transition temperature in an enriched plasma membrane fraction from ram spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, v. 73, n. 1, p. 285-294, 1985.
- HOLT, W.V.; NORTH, R.D. Thermotropic phase transitions in the plasma membrane of ram spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, v. 78, n. 2, p. 447-457, 1986.
- HOUGHTON, J.A.S.; LIBERATI, N.; SCHRICK, F.N. et al. Day of estrus cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. *J. Anim. Sci.*, v. 73, n. 7, p. 2094-2101, 1995.
- HUGHES, P.E.; HEMSWORTH, P.H. Mating management and artificial insemination. In: COLE, D.J.A.; WISEMAN, J.; VARLEY, M.A. *Principles of Pig Science*, Loughborough: Nottingham University Press, p. 253-276, 1994.
- HUNTER, M.G. Characteristics and causes of inadequate corpus luteum. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 43, p. 91-99, 1991.
- IRITANI, A.J.; NISHIKAWA, Y. Studies on the egg yolk coagulating factor in goat semen. II. Properties of the coagulating factor and influential condition for coagulation. In: SILVER JUBILEE LAB. ANIM. HUSBANDRY KYOTO UNIVERSITY. 1961, Kyoto. *Proc...Kyoto:1961*. p.97-104.
- IRITANI, A.; NISHIKAWA, Y. Studies on the egg-coagulating enzyme in goat semen: IV. On the position of yolk constituents attacked by the coagulating enzyme. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, v.8, n.1, p.113-117, 1963.
- JAROSZ, S.J.; DEANS, R.J.; DUKELOW, W.R. The reproductive cycle of the African Pygmy and Toggenburg goat. *J. Reprod. Fert.*, v. 24, n.1, p. 119-123, 1971.
- JONES, R.C.; MARTIN, I.C.A. The effects of dilution, egg yolk and cooling to 5°C on the ultrastructure of ram spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, v. 35, n.2, p. 311-320, 1973.
- JOSHI, A.; MATHUR, A.K.; SRIVASTAVA, R.S. Factors affecting metabolic behaviour of ram spermatozoa during cryopreservation. *Indian J. Anim. Sci.*, v.60, n. 11, p.1336-1337, 1990.
- KARATZAS, G.; KARAGIANNIDIS, A.; VARSAKELI, S. et al. Fertility of fresh and frozen-thawed goat semen during the nonbreeding season. *Theriogenology*, v.48, n.6, p.1049-1059, 1997.

- KNIGHT, T.W. Ram induced stimulation of ovarian and oestrus activity in anoestrus ewes – a review. In: NEW ZELAND SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION. 1983, New Zeland. *Proc...*New Zeland:1983. v. 43, p. 7-11.
- KUSINA, N.T.; TARWIREI, F.; HAMUDIKUWANDA, H. et al. A comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF₂ α , and their combination on efficacy of estrus synchronization and fertility of Mashona goat does. *Theriogenology*, v. 53, n. 8, p. 1567-1580, 2000.
- LEBOEUF, B. *L'insémination artificielle caprine en France, ét at actuel et perspectives dávenir*. Varese: Greppi, G.F., 1989. p. 87-113.
- LEBOEUF, B.; GUILLOUET, Ph.; BATELLIER, F. et al. Effect of native phosphocaseinate on the *in vitro* preservation of fresh semen. *Theriogenology*, v.60, n.5, p.867-877, 2003.
- LEBOEUF, B.; MANFREDI, E.; BOUE, P. et al. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livest. Prod. Sci.*, v. 55, n. 3, p. 193–203, 1998.
- LEBOEUF, B.; RESTALL, B.; SALAMON, S. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.*, v.62, n. 1-3, p.113-141, 2000.
- LINCOLN, G.A. Photoperiod-pineal-hypotalamic relay in sheep. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 28, n. 1/4, p. 203-217, 1992.
- MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Effects of two washing solutions on sperm survival of the bucks. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS. 1992, New Delhi. *Proc...*New Delhi:1992. v. 2, p. 1089-1094.
- MACHADO, R.; SIMPLICIO, A. A. Inseminação artificial em caprinos no Brasil: estágio atual. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v. 19, n. 1-2, p. 61-72, 1995.
- MAFFILI, V. V. *Protocolos de sincronização e indução do estro e ovulação em cabras*. 2004. 93 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa.
- MATHEW, J.; RAJA, C.K.S.V.; NAIR, K.P. Preservation of buck semen in Tris yolk diluent. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF GOAT PRODUCTION AND DISEASE, 3. 1982, Tucson. *Proc...*Tucson:1982. p. 506.
- MEDEIROS, L.P.; GIRÃO, R.N.; GIRÃO, E.S.; PIMENTEL, J.C.M. *Caprinos: Princípios básicos para sua exploração*. Teresina: Embrapa-CPAMN/SPI, 1994, p. 63-78.
- MELLADO, M.; ALEMÁN, R.; OROZCO, F.J. et al. Effect of prostaglandin F₂ α dosage and route of administration on estrus response in Criollo goats under range conditions. *Small Rum. Res.*, v. 14, n. 3, p. 205-208, 1994.
- MEMON, M.A.; BRETZLAFF, K.N.; OTT, R.S. Effect of washing on motility and acrosome morphology frozen-thawed goat spermatozoa. *Am. J. Vet. Res.*, v.46, n. 2, p.473-475, 1985.
- MEMON, M.A.; BRETZLAFF, K.N.; OTT, R.S. Comparison of semen collection techniques in goats. *Theriogenology*, v.26, n. 6, p. 823-827, 1986.
- MEMON, M.A.; OTT, R.S. Methods of semen preservation and artificial insemination in sheep and goats. *World Rev. Anim. Prod.*, v.17, n. 1, p.19-25, 1981.

- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Effect of high progesterone concentrations during the early luteal phase on the length of the ovulatory cycle of goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 68, n. 1-2, p. 69-76, 2001.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamic in goats. *Theriogenology*, v. 57, n. 5, p. 1411-1419, 2002.
- MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod. Fert. Develop.*, v. 16, n. 4, p. 403-413, 2004.
- MÉNDEZ, J.V.; HERRERA, G.G.; GARCÍA, M.E.G., GONZÁLEZ, A.t. Motilidad y daño acrosomal del semen caprino congelado en pajillas de 0,25 ml y 0,5 ml y descongelado a dos diferentes ritmos de temperatura. *Vet. Méx.*, v.25, n. 2, p.127-131, 1994.
- MGONGO, F.O.K. Doses of prostaglandin analogue "cloprostenol" by intravulvo-submucosal (IVSM) injections effective for the induction of oestrus in goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 14, n. 1, p. 139-146, 1987.
- MGONGO, F.O.K. The effects of buck teasing on synchronization of estrus in goats after intravulvo-submucosal administration of cloprostenol. *Theriogenology*, v.30, n.5, p. 987-995, 1988.
- MIES FILHO, A. *Reprodução dos animais e inseminação artificial*, 5 ed. Porto Alegre: Sulina, 1982, v.2. p. 765.
- MOUCHREK, E.; MOULIN, C.H.S. Comportamento sexual de fêmeas caprinas sem raça definida (SRD) no estado de Minas Gerais. *Inf. Agrop.*, v.13, n.146, p. 3-8, 1987.
- MOULIN, C.H.S.; MOUCHREK, E. Desempenho reprodutivo de cabras sem raça definida (SRD) no estado de Minas Gerais. *Inf. Agrop.*, v.13, n.146, p. 9-11, 1987.
- NAGASE, H. Artificial insemination. Deep freezing of bull, goat and stallion semen in concentrated pellet form. *Jap. Agric. Res.*, v.1, n.1, p.2, 1966.
- NAKAMURA, M.; NAKAMURA, K.; IGARASHI, S. et al. Interaction between activin A and cAMP in induction of FSH receptor in cultured granulosa cells. *J. Endocrinol.*, v. 147, n. 1, p. 103-110, 1995.
- NIMBULKAR, M.V.; CHAUAN, V.P.; HONMONDE, J. Preservation of goat semen at ambient temperatures. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOAT PRODUCTION AND DISEASE, 3., 1982, Tucson. *Proc...*Tucson:1982, p.285.
- NISHIKAWA, Y.; HOLFIE, I.; SUGIE, T. et al. Studies on the transplantation of ova in goats. IV - Experiments on the synchronization of estrus and transplantation of ova into the recipient. *Proc. Jap. Acad.*, v.39, p. 758-763, 1963.
- NOGUEIRA, L.A.G. *Efeitos do momento e do número de inseminações artificiais em certos aspectos da eficiência reprodutiva de fêmeas da raça Landrace*. 1982. 52 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais.
- NUNES, J.F. El agua de coco como diluidor del semen caprino. *Rev. Cient.*, v.3, n.1, p. 45-51, 1993.
- NUNES, J.F.; FELICIANO SILVA, A.E.D. Tecnologia do sêmen resfriado em caprinos, *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.8, n. 2, p. 121-127, 1984.
- NUTI, L.C.; BRETZLAFF, K.N.; ELMORE, R.G. et al. Synchronization of estrus in dairy goats treated with prostaglandin F_{2α} at various stages of the

- estrous cycle. *Am. J. Vet. Res.*, v. 53, n. 6, p. 935-937, 1992.
- ORGEUR, P.; MIMOUNI, P.; SIGNORET, J.P. The influence of rearing conditions on the social relationship of young male goats (*Capra hircus*). *Appl. Anim. Behav. Sci.*, v. 27, n. 1-2, p.105-113, 1990.
- OTT, R.S.; NELSON, D.R.; HIXON, J.E. Fertility of goats following synchronization of estrus with prostaglandin F2 α . *Theriogenology*, v. 13, n. 5, p.341-345,1980a.
- OTT, R.S.; NELSON, D.R.; HIXON, J.E. Peripheral serum progesterone and luteinizing hormone concentrations of goats during synchronization of estrus and ovulation with prostaglandin F2 α . *Am. J. Vet. Res.*, v.41, n.9, p. 1432-1434, 1980b.
- PALHARES, M.S. *Adequação de um novo container para o transporte do sêmen equino diluído e resfriado. I – Características termodinâmicas e funcionais, II – desempenho reprodutivo das éguas inseminadas.* 1997. 246 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais.
- PARKS, J.E.; GRAHAM, J.K. Effects of cryopreservation on sperm membranes. *Theriogenology*, v. 38, n. 2, p. 209-222, 1992.
- PATE, J.L. Intercellular communication in the bovine corpus luteum. *Theriogenology*, v. 45, n. 7, p. 1381-1397, 1996.
- PAULENZ, H.; SÖDERQUIST, L.; ÅDNØY, T. et al. Effect of cervical and vaginal insemination with liquid semen stored at room temperature on fertility of goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 86, n.1-2, p. 109-117, 2005.
- PAULENZ, H.; SÖDERQUIST, L.; ÅDNØY, T. et al. Effect of milk- and TRIS-based extenders on the fertility of sheep inseminated vaginally once or twice with liquid semen. *Theriogenology*, v. 60, n. 4, p.759–766, 2003.
- PERKS, C.M.; DENNING-KENDALL, P.A.; GILMOUR, R.S. et al. Localization of messenger ribonucleic acids for insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II, and the type 1 IGF receptor in the ovine ovary throughout the estrous cycle. *Endocrinology*, v. 136, n. 12, p. 5266-5273, 1995.
- PICKETT, B.W.; SQUIRES, E.L.; MCKINNON, A.O. *Procedures for collection, evaluation and utilization of stallion semen for artificial insemination.* Colorado State University: Fort Collins, 1987. 125p.
- POMARES, C.C.; STOJANOV, T.; EPPLESTON, J.; MAXWELL, W.M.C. Effect of glutathione peroxidase on the survival of goat and ram spermatozoa during liquid storage. In: INT. SYMP. ON SPERMATOLOGY, 7., 1994, Cairns. *Proc...*Cairns:1994, v. 9, p. 24 (abstract).
- PRASAD, S.P. A note on the occurrence of short oestrous cycles and possible association of ovarion activity in Barbari nannies. *Indian J. Anim. Sci.*, v. 49, n. 10, p. 854-856, 1979.
- PRASAD, S.P. Conception rate with goat milk as semen dilutor in Barbari goats in different seasons. *Indian J. Anim. Sci.*, v. 51, n. 11, p. 1056-1058, 1981.
- PRASAD, S.P.; BHATTACHARYYA, M.K. Oestrus cycle and behaviour in different seasons in Barbari nannies. *Indian J. Anim. Sci.*, v. 49, n.12, p. 1058-1062, 1979.
- PRASAD, S.P.; DAS, S.C.; BHATTACHARYYA, M.K. A study on the characteristics of Graafian follicles and ovulation sequence in nullipara Barbari

nannies. *Indian J. Anim. Sci.*, v. 50, n. 1, p. 53-57, 1980.

PROSPERI, C.P. *Parâmetros reprodutivos de fêmeas caprinas tratadas com os hormônios hCG, progesterona, eCG e cloprostenol*. 2004. 61 f. Tese (Doutorado e, Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.

IVAN, T.D.; ROBINSON, T.J. Numbers of spermatozoa in the genital tract after artificial insemination of progestagen-treated ewes. *J. Reprod. Fert.*, v. 19, n.1, p. 73-86, 1969.

RAMIREZ-GODINEZ, J.A.; KIRACOFÉ, G.H.; SCHALLES, R.R. et al. Endocrine patterns in the postpartum beef cow associated with weaning: A comparison of short and subsequent normal cycles. *J. Anim. Sci.*, v. 55, n. 1, p. 153-158, 1982.

REIS, F.T. *Efeito de diferentes estímulos sexuais sobre o ciclo estral e a performance reprodutiva de fêmeas suínas inseminadas artificialmente*. 1997. 181 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais.

RIBEIRO, S.D.A. *Caprinocultura: Criação racional de caprinos*, São Paulo: Nobel, 1997. 380p.

RIERA, S. Reproductive efficiency and management in goats. INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOAT PRODUCTION AND DISEASE. 1982, Tucson. *Proc...*Tucson:1982, v. 3, p. 162-174.

RITAR, A.J. Control of ovulation, storage of semen, and artificial insemination of fibre-producing goats in Australia: a review. *Aust. J. Exp. Agriculture*, v. 33, n.6, p. 807-820, 1993.

RITAR, A.J.; BALL, P.D. The effect of freeze thawing of goat and sheep semen at a high density of spermatozoa on cell viability

and fertility after insemination. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 31, n. 3-4, p. 249-262, 1993.

RITAR, A.J.; BALL, P.D.; O'MAY, P.J. Artificial insemination of Cashmere goats: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination, semen freezing process, number of motile spermatozoa and age of females. *Reprod. Fert. Develop.*, v. 2, n. 4, p.377-384, 1990a.

RITAR, A.J.; BALL, P.D.; O'MAY, P.J. Examination of methods for the deep freezing of goat semen. *Reprod. Fert. Develop.*, v. 2, n. 1, p. 27-34, 1990b.

RITAR, A.J.; MENDOZA, G.; SALAMON, S. et al. Frequent semen collection and sperm reserves of the male Angora goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fert.*, v.95, n. 1, p.97-102, 1992.

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. *Aust. J. Biol. Sci.*, v.35, n.3, p.305-312, 1982.

RITAR, A.J.; SALAMON, S. Fertility of fresh and frozen-thawed semen of the Angora goat. *Aust. J. Biol. Sci.*, v.36, n.1, p.49-59. 1983.

RITAR, A.J.; SALAMON, S. Effects of month of collection, method of processing, concentration of egg yolk and duration of frozen storage on viability of Angora goat spermatozoa. *Small Rum. Res.*, v.4, n.1, p.29-37, 1991.

RITAR, A.J.; SALAMON, S. Fertility of fresh and frozen-thawed semen of the Angora goat. *Aust. J. Biol. Sci.*, v. 36, n. 1 , p. 49-59, 1993.

- ROCA, J.; CARRIZOSA, J.A.; CAMPOS, I. et al. Viability and fertility of unwashed Murciano-Granadina goat spermatozoa diluted in Tris-egg yolk extender and stored at 5°C. *Small Rum. Res.*, v.25, n. 2, p.147-153, 1997.
- ROMANO, J.E. Effects of different stimuli of service on estrous duration in dairy goats. *Theriogenology*, v. 42, n. 5, p. 875-879, 1994.
- ROMANO, J.E.; FERNANDEZ ABELLA, D. Effect of service on duration of oestrus and ovulation in dairy goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 47, n. 1-2, p. 107-112, 1997.
- ROZEBOOM, K.J.; TROEDSSON, M.H.T.; CRABO, B.G. AI in swine: the impact of inseminations on the uterine environment. In: JOHNSON, L.A. e GUTHRIE, H.D. *Boar Preservation IV*, Kansas:Allen Press, 2000. p. 177-184.
- ROY, A. Egg-yolk coagulatin enzyme in the semen and Cowper's gland of the goat. *Nature*, v. 179, p. 318, 1957.
- RUBIANES, E.; MENCHACA, A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 78, n. 3-4, p. 271-287, 2003.
- RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to prostaglandin-F2 α . *Anim. Reprod. Sci.*, v. 78, n. 1-2, p. 47-55, 2003.
- SAHARREA, A.; VALENCIA, J.; BALCÁZAR, 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, 1998.
- SAHNI, K.L. Practical aspect of artificial insemination of goats in India. INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS PRODUCTION AND DISEASE, IV, 1987, Brasilia. *Proc...*Brasília:1987, p. 549.
- SALAMON, S. Studies on the artificial insemination of Merino sheep. III- The effect of frequent ejaculation on semen characteristics and fertilizing capacity. *Aust. J. Agricultural Res.*, v.13, n.5, p. 1137-1150, 1962.
- SALAMON, S. The effect of nutritional regimen on the potential semen production of rams. *Aust. J. Agricultural Res.*,v.15, n.4, p. 645-656, 1964.
- SALAMON, S.; LINGHTFOOT, R.J. Fertilization and embryonic loss in sheep after insemination with deep frozen semen. *Nature*, v. 216, n. 111, p. 194-195, 1967.
- SALAMON, S.; MAXWELL, W.M.C.; FIRTH, J.H. Fertility of ram semen after storage at 5°C. *Anim. Reprod. Sci.*, v.2, n. 4, p.373-385, 1979.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265p.
- SANGHA, G.K.; SHARMA, R.K.; GURAYA, S.S. Biology of corpus luteum in small ruminants. *Small Rum. Res.*, v.43, n. 1, p. 53-64, 2002.
- SCHWARZ, T.; WIERZCHOS, E. Relationship between FSH and ovarian follicular dynamics in goats during the estrous cycle. *Theriogenology*, n.1, v. 53, p. 381, 2000.
- SCOTT, T.W.; DAWSON, R.M.C. Metabolism of phospholipids by spermatozoa and seminal plasma. *Biochem. J.*, v.108, n.3, p.457-463. 1968.

- SENGER, P.L.; BECKER, W.C.; DAVIDGE, S.T. Influence of cornual insemination on conception in dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, v.66, n. 11, p.3010-16, 1988.
- SHAMSUDDIN, M.; AMIRI, Y.; BHUIYAN, M.M.U. Characteristics of buck semen with regard to ejaculate numbers, collection intervals, diluents and preservation periods. *Reprod. Dom. Anim.*, v.35, n. 2, p.53-57, 2000.
- SIGNORET, J.P. Reproductive behaviour of pigs. *J. Reprod. Fert. Suppl.* n. 11, p. 105-117, 1970.
- SIGNORET, J.P.; BUISSON, F.M.; MAULEON, P. Effect of mating on the onset and duration of ovulation in the sow. *J. Reprod. Fert.*, v. 31, n. 2, p. 327-330, 1972.
- SILVIA, W.J. The role of uterine and ovarian hormones in luteolysis: A comparison among species. *Reprod. Dom. Anim.*, v.34, n.4, p. 317-328, 1999.
- SIMPLÍCIO, A.A. Inseminação artificial na espécie caprina. *Inf. Agropec.*, v. 13, n. 148, p. 30, 1987.
- SIMPLÍCIO, A.A.; MACHADO, R. Tecnologia de sêmen e inseminação artificial na espécie caprina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 8, 1989, Belo Horizonte, MG. *Anais...*BH: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1989, p. 171-177.
- SIMPLÍCIO, A.A.; RIERA, G.S.; NUNES, J.F. Estrous cycle and period evaluation in an undefined breed type (SRD) for goats in Northeast Brazil. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOAT PRODUCTION AND DISEASE.1982, Tucson. *Proc...*Tucson:1982, v. 3, p. 310.
- SINGH, L.P.; PURBEY, L.N. Preservability of goat spermatozoa in Tris and Citrate extenders at -196°C and 5°C. *Indian J. Anim. Sci.*, v. 66, n. 11, p.1139-1141, 1996.
- SMITH, M.C. Synchronization of estrus and the use of implants and vaginal sponges. In: MORROW, D.A., *Current Therapy in Theriogenology*, 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. 582-583.
- STAGNARO, G.C. Insemination artificial en cabras con semen congelado. *Zootechnia*, v. 24, n. 3/4, p. 151-163, 1975.
- STOCK, A. E.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*, v. 132, n.3, p. 1108-1114, 1993.
- TULI, R.K.; HOLTZ, W. Effect of glycerolization procedure and removal of seminal plasma on post-thaw survival and GOT-release from Boer goat spermatozoa. *Theriogenology*, v. 42, n. 3, p. 547-555, 1994.
- UNGERFELD, R.; RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestogen priming for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Anim. Sci.*, v. 68, n. 3, p. 349-353, 1999.
- VALLE, G.R. *Efeito da rufiação e manipulação do sistema genital e transporte de sêmen, em container "celle" modificado, na avaliação da técnica de inseminação artificial de eqüinos.* 1997. 349 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais.
- VALLET, J.C.; BA, G.; LEBOEUF, B.; PERRIN, J. Insémination artificielle intra uterine sous controle laparoscopique chez

les petits ruminants domestiques. *Ann. Zootech.*, v. 41, n. 3-4, p. 305–309, 1992.

VIÑALES, C. *Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe*. 2003. 56 f. (Doctoral Thesis), Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

VIVANCO, W.; MORALES, C.; NOLTE, E. Comparasion between artificial insemination with frozen semen and natural mating in Criollo goats in the North Coast of Peru under range conditions. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOAT PRODUCTION AND DISEASE. 1982, Tucson. *Proc...*Tucson:1982, p. 537.

WALKDEN-BROWN, S.W.; RESTALL, B.J.; NORTON, B.W. et al. The “female effect” in Australian cashmere goats: effect of season and quality of diet on the LH and testosterone response of bucks to oestrus does. *J. Reprod. Fert.*, v. 100, n. 2, p. 521-531, 1994.

WHITE, L.M.; KEISLER, D.H.; DAILY, R.A. INSKEEP, E.K. Characterization of preovulatory follicles destined to form subfunctional corpora lutea. *Biol. Reprod.*, Suppl. 1, v. 32, p. 43, 1985.

WILTBANK, M.C.; GALLAGER, K.P.; CHRISTENSEN, A.K.; BRABEC, R.K.; KEYES, P.L. Physiological and

immunocytochemical evidence for a new concept of blood flow regulation in the corpus luteum. *Biol. Reprod.*, v.42, n. 1, p. 139-149, 1990.

WILTBANK, M.C.; NISWENDER, G.D. Steroidogenic enzyme activity after activation of protein kinase (PK) A and PKC in ovine large and small luteal ceels. *Biol. Reprod.*, v.44, suppl. 1, p. 226, 1991 (abstract).

WILTBANK, M.C.; NISWENDER, G.D. Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. *An. Reprod. Sci.*, v. 28, n. 14, p. 103-110, 1992.

WILTBANK, M. C.; SHIAO, T. F.; BERGFELT, D. R. Prostaglandin F_{2α} receptors in the early corpus luteum. *Biol. Reprod.*, v. 52, n. 1, p. 74-78, 1995.

ZELEZNIK, A. J.; BENYO, D. F. *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press Ltd., 1994, v. 1, p. 762-763.

ZYGOGIANNIS, D.; KATSAOUNIS, N.; KARATZAS, G. The effect of the method of breeding on the reproductive performance indigenous goats (*Capra prisca*) mated at the beginning of the breeding season. *Anim. Prod.*, v.49, n. 2, p. 291-297, 1989.

8 - ANEXOS

Anexo A - Análises estatísticas das Tabelas 05 e 06.

Análise 1 - Comparação da taxa de prenhez entre reprodutores

Frequência	Bode 1	Bode 2	Total
Gestantes	14	13	27
Não gestantes	13	15	28
Total	27	28	55

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,162	1	0,688

Análise 2 - Comparação da taxa de prenhez entre tratamentos, para o bode 1

Frequência	Tratamento 1	Tratamento 2	Total
Gestantes	7	7	14
Não gestantes	7	6	13
Total	14	13	27

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,040	1	0,842

Análise 3 - Comparação da taxa de prenhez entre tratamentos, para o bode 2

Frequência	Tratamento 1	Tratamento 2	Total
Gestantes	8	5	13
Não gestantes	5	10	15
Total	13	15	28

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	2,227	1	0,136

Anexo B - Ficha para avaliação do sêmen dos bodes e controle das cabras inseminadas por coleta.

FICHA PARA AVALIAÇÃO DE SÊMEN

Animal: _____
 Responsável: _____
 Tempo de reação: _____
 N°de montas: _____
 Duração da ejaculação: _____

Data: _____
 Hora: _____
 Tempo para monta: _____
 Ejaculado n°: _____

Volume (ml): _____
 Motilidade (%): _____

Coloração: _____
 Vigor (0-5): _____
 Turbilhonamento (0-5): _____

CONCENTRAÇÃO

_____ + _____ = _____ /2 = _____ x10⁶ = _____ x10⁶

- N° total de sptz = _____
- N° total de sptz móveis = _____
- $\frac{N^{\circ} \text{ total de sptz móveis}}{\text{Concentração utilizada}}$ = _____
- Número de doses = _____
- Volume de sêmen (ml) = _____
- Volume de diluidor (ml) = _____
- Taxa de diluição = _____
- Concentração utilizada: _____
- Diluidor: _____

CABRAS INSEMINADAS

Cabra – número	Data	Horário	Observações
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

Anexo D - Dados referentes às cabras que foram inseminadas duas vezes.

Tabela 22 - Parâmetros reprodutivos, referentes à primeira inseminação, das cabras inseminadas duas vezes durante o período experimental

Parâmetros avaliados	Cabras			
	00212	96124	02313	03406
Tratamentos	T2B2	T1B1	T1B2	T1B1
Idade (meses)	56	100	32	13
Escore corporal (1-5)	3,5	2,5	4,25	4
Peso (kg)	37,5	44	43,5	35
Intervalo 2 ^a PGF2 α -cio (h)	54	54	54	54
Duração do cio (h)	24	39	48	36
Tempo da coleta à IA (h)	24,7	14,58	14,13	14,42
Intervalo início do cio-IA (h)	22,28	22,20	22,42	22,00
Duração da IA (seg.)	300	-	-	-
Intervalo IA ao término do cio (h)	1,72	16,8	25,57	14
Retorno do cio após a IA (dias)	3,8	-	-	-

Anexo E - Dados referentes ao comportamento sexual, avaliação física do sêmen com 0, 12 e 24 horas de resfriamento a 5°C e desempenho reprodutivo dos bodes durante o período pré-experimental.

Tabela 23 - Comportamento sexual, características físicas do sêmen e desempenho reprodutivo dos bodes durante o período pré-experimental (março/2005)

Parâmetros avaliados	Bode 1 (n=15)	Bode 2 (n=17)
	Média \pm s	Média \pm s
Tempo de reação	00:37:37 \pm 00:14:53	00:17:25 \pm 01:07:40
Tempo para a monta	00:51:19 \pm 02:00:32	02:02:23 \pm 00:41:40
Duração da ejaculação	00:01:46 \pm 00:00:36	00:01:56 \pm 00:00:40
Nº de saltos/ejaculado	2,27 \pm 1,44	1,12 \pm 0,33
Volume de sêmen (ml)	0,89 \pm 0,27	1,57 \pm 0,51
Motilidade (0-100%)	83,33 \pm 4,50	81,47 \pm 4,60
Vigor (0-5)	3,60 \pm 0,28	3,59 \pm 0,44
Turbilhonamento (0-5)	3,73 \pm 0,50	3,35 \pm 0,42
Total de sptz/ml x 10 ⁶	2334,33 \pm 575,35	2683,24 \pm 745,09
Total de sptz móveis/ml x 10 ⁶	1943,17 \pm 470,65	2175,76 \pm 591,86
Total de sptz/ejaculado x 10 ⁶	2089,33 \pm 832,35	4244,35 \pm 1849,00
Total de sptz móveis/ejaculado x 10 ⁶	1736,08 \pm 691,21	3429,68 \pm 1421,19
Nº de doses/ejaculado*(Potencial)	11,58 \pm 4,61	22,86 \pm 9,47

* Utilizando uma concentração de 150x10⁶ sptzs móveis/dose.

Tabela 24 - Características físicas do sêmen após 12 ou 24 horas de armazenamento a 5°C, durante o período pré-experimental (março/2005)

	0 hora		12 horas		24 horas	
	Motilidade (%)	Vigor (1-5)	Motilidade (%)	Vigor (1-5)	Motilidade (%)	Vigor (1-5)
Bode 1 (n=15)	83,33±4,50	3,60±0,28	64,33±10,33	2,97±0,30	62,12±9,67	2,96±0,32
Bode2 (n=17)	81,47±4,60	3,59±0,44	56,76±9,83	2,79±0,40	47,35±15,22	2,56±0,50

Anexo F - Análises estatísticas das Tabelas 09 e 10.

Análise 4 - Comparação do vigor espermático nos tempos 0, 12 e 24 horas de resfriamento do sêmen a 5°C

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	2	12,3151	6,1576	22,72	0,0001
Erro	101	27,3748	0,2710		
Total	103	39,6899			
Coeficiente de variação: 14,46					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste		
	Tempo 0h	Tempo 12h	Tempo 24h
SNK (P<0,05)	a	b	b

Análise 5 - Comparação da motilidade espermática nos tempos 0, 12 e 24 horas de resfriamento do sêmen a 5°C

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	2	0,6127	0,3064	47,87	0,0001
Erro	101	0,6464	0,0064		
Total	103	1,2591			
Coeficiente de variação: 11,48					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste		
	Tempo 0h	Tempo 12h	Tempo 24h
SNK (P<0,05)	a	b	b

Análise 6 - Comparação da motilidade espermática nos tempos 0, 12 e 24 horas de resfriamento do sêmen a 5°C (dados transformados em arco seno \sqrt{x})

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	2	0,7923	0,3962	49,36	0,0001
Erro	101	0,8107	0,0080		
Total	103	1,6030			
Coeficiente de variação: 9,00					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste		
	Tempo 0h	Tempo 12h	Tempo 24h
SNK (P<0,05)	a	b	b

Análise 7 - Comparação do número de espermatozoides/ejaculado entre reprodutores.

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	3814632,84	3814632,84	1,30	0,5967
Erro	33	40769564,63	1235441,35		
Total	34	44584197,47			
Coefficiente de variação: 45,56					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	2118,69	1038,61	0,5967
Urupê (2)	2779,24	1184,05	

Análise 8 - Comparação do número de espermatozoides móveis/ejaculado entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	1081468,66	1081468,66	1,17	0,7519
Erro	33	26937631,57	816291,87		
Total	34	28019100,23			
Coefficiente de variação: 46,43					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	1775,11	937,90	0,7519
Urupê (2)	2126,82	865,43	

Análise 9 - Comparação do número de doses/ejaculado entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	48,12	48,12	1,17	0,7527
Erro	33	1197,38	36,28		
Total	34	1245,50			
Coefficiente de variação: 46,43					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	11,83	6,25	0,7527
Urupê (2)	14,18	5,77	

Análise 10 - Comparação do número de cabras inseminadas, entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	1,46	1,46	2,13	0,2826
Erro	17	46,22	2,72		
Total	18	47,68			
Coefficiente de variação: 50,53					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	3,00	1,33	0,2826
Urupê (2)	3,56	1,94	

Análise 11 - Comparação da motilidade espermática, entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	0,02	0,02	2,11	0,1431
Erro	33	0,07	0,00		
Total	34	0,09			
Coeficiente de variação: 5,60					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	0,83	0,05	0,1431
Urupê (2)	0,78	0,04	

Análise 12 - Comparação da motilidade espermática, entre reprodutores (dados transformados em arco seno \sqrt{x})

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	0,04	0,0380	2,59	0,0637
Erro	33	0,11	0,0034		
Total	34	0,15			
Coeficiente de variação: 5,20					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	1,15	0,07	0,0637
Urupê (2)	1,08	0,04	

Análise 13 - Comparação do vigor espermático, entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	0,1687	0,1687	1,47	0,4469
Erro	33	6,4023	0,1940		
Total	34	6,5714			
Coeficiente de variação: 10,82					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	4,14	0,48	0,4469
Urupê (2)	4,00	0,40	

Análise 14 - Comparação do número de espermatozoides/ml, entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	124631,7670	124631,7670	2,71	0,0520
Erro	33	9458735,3758	286628,35		
Total	34	9583367,1429			
Coeficiente de variação: 27,28					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	2020,28	642,74	0,0520
Urupê (2)	1900,88	390,18	

Análise 15 - Comparação do número de espermatozoides móveis/ml, entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	398040,3938	398040,3938	4,25	0,0058
Erro	33	7085020,7919	214697,60		
Total	34	7483061,1857			
Coefficiente de variação: 29,33					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	1683,43	584,18	0,0058
Urupê (2)	1470,06	68,69	

Análise 16 - Comparação do turbilhonamento espermático, entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	2,8269	2,8269	1,69	0,2991
Erro	33	8,5588	0,2594		
Total	34	11,3857			
Coefficiente de variação: 14,32					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	3,83	0,57	0,2991
Urupê (2)	3,27	0,44	

Análise 17 - Comparação da duração da ejaculação, entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	3,3764	3,3764	2,35	0,0907
Erro	33	21,7781	0,6599		
Total	34	25,1544			
Coefficiente de variação: 51,21					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	1,28	0,63	0,0907
Urupê (2)	1,91	0,97	

Análise 18 - Comparação do tempo para a monta, entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	197480,1153	197480,1153	61,54	0,00001
Erro	33	243101,3735	7366,7083		
Total	34	440581,4888			
Coefficiente de variação: 105,93					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	8,03	15,58	0,00001
Urupê (2)	158,32	122,21	

Análise 19 - Comparação do tempo de reação, entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	5444,9599	5444,9599	3,35	0,0229
Erro	33	87899,0763	2663,6084		
Total	34	93344,0363			
Coeficiente de variação: 119,83					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	55,19	63,31	0,0229
Urupê (2)	30,24	35,14	

Análise 20 - Comparação do volume seminal, entre reprodutores

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	1	1,3401	1,3401	1,64	0,3212
Erro	33	6,7268	0,2038		
Total	34	8,0667			
Coeficiente de variação: 36,24					

Reprodutor	Média	DP	P
Baco (1)	1,06	0,09	0,3212
Urupê (2)	1,45	0,12	

Anexo G - Análises estatísticas da Tabela 11.

Análise 21 - Comparação da idade, em meses, das cabras por tratamento

Sêmen	Média	DP	Mínimo	Máximo	P
12 horas	40,27	27,81	7,00	123,00	
24 horas	40,14	24,51	7,00	103,00	0,5680

Análise 22 - Comparação do escore corporal (1-5) das cabras, por tratamento

Sêmen	Média	DP	Mínimo	Máximo	P
12 horas	3,46	0,74	2,25	4,50	
24 horas	3,49	0,58	2,50	4,75	0,2337

Análise 23 - Comparação do peso (em kg) das cabras, por tratamento

Sêmen	Média	DP	Mínimo	Máximo	P
12 horas	44,41	8,85	29,00	60,00	
24 horas	47,22	8,41	30,00	62,00	0,7913

Análise 24 - Comparação do intervalo da aplicação da segunda dose de PGF2 α ao início do cio, por tratamento

Sêmen	Média	DP	Mínimo	Máximo	P
12 horas	45,33	9,93	21,00	63,00	
24 horas	47,14	10,51	30,00	78,00	0,7710

Análise 25 - Comparação da duração do cio, em horas, após a aplicação da segunda dose de PGF2 α , por tratamento

Sêmen	Média	DP	Mínimo	Máximo	P
12 horas	33,67	12,18	15,00	72,00	
24 horas	31,07	12,36	15,00	63,00	0,9422

Análise 26 - Comparação do tempo de coleta à inseminação, em horas, por tratamento

Sêmen	Média	DP	Mínimo	Máximo	P
12 horas	12,09	1,95	9,17	15,25	0,4552
24 horas	23,99	2,26	20,13	27,42	

Análise 27 - Comparação do intervalo do início do cio à inseminação, em horas, por tratamento

Sêmen	Média	DP	Mínimo	Máximo	P
12 horas	19,77	6,41	9,82	34,00	0,2327
24 horas	17,83	5,07	9,98	34,00	

Análise 28 - Comparação da duração da inseminação, em segundos, por tratamento

Sêmen	Média	DP	Mínimo	Máximo	P
12 horas	72,19	55,10	9,00	272,00	0,9630
24 horas	62,52	55,61	8,00	205,00	

Análise 29 - Comparação do intervalo da inseminação ao término do cio, em horas, por tratamento

Sêmen	Média	DP	Mínimo	Máximo	P
12 horas	13,69	12,13	-4,90	51,58	0,4516
24 horas	13,02	14,07	-10,00	39,58	

Análise 30 - Comparação da taxa de concepção entre os tratamentos

Frequência	Tratamento 1 (12h)	Tratamento 2 (24h)	Total
Gestantes	15	12	27
Não gestantes	12	16	28
Total	27	28	55

Teste estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,887	1	0,346

Análise 31 - Comparação do tempo de retorno ao cio, em dias, por tratamento

Sêmen	Média	DP	Mínimo	Máximo	P
12 horas	11,28	7,88	3,63	21,38	0,8822
24 horas	12,89	8,33	3,63	24,63	

Anexo H - Análises estatísticas da Tabela 12.

Análise 32 - Comparação do intervalo da primeira e segunda aplicações de PGF2 α ao início do cio, em horas

	Média	DP	P
1 ^a PGF2 α	41,04	20,32	0,0001
2 ^a PGF2 α	45,67	9,28	

Análise 33 - Comparação da duração do estro, em horas, após a primeira (cios induzidos não inseminados) e segunda (cios induzidos inseminados) aplicações de PGF2 α

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	2	1862,7602	931,3801	4,75	0,0098
Erro	169	33138,6584	196,0867		
Total	171	35001,4186			
Coeficiente de variação: 37,91					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste		
	Cios naturais	Cios induzidos não inseminados	Cios induzidos inseminados
SNK (P<0,05)	a	a	b

Análise 34 - Porcentagem de manifestação de cio, após a primeira e segunda aplicações de PGF2 α

	Primeira PGF2 α	Segunda PGF2 α
% Manifestação	85,48 (53/62)	88,71 (55/62)

Anexo I - Análises estatísticas das tabelas 13, 14 e 15.

Análise 35 - Frequência de distribuição das fêmeas por categoria reprodutiva, por reprodutor e por tratamento

Frequência	T1B1	T1B2	T2B1	T2B2	Total
Cabritas	3	2	3	3	11
Secas	7	7	7	7	28
Lactantes	4	2	3	5	14
Desconhecida	0	2	-	-	2
Total	14	13	13	15	55

Análise 36 - Comparação da taxa de prenhez entre as categorias 1 (cabritas), 2 (secas) e 3 (lactantes)

Frequência	1	2	3	Total
Gestante	6	11	9	26
Não gestante	5	17	5	27
Total	11	28	14	53*

* Foram retiradas as duas cabras de categoria desconhecida

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	2,502	2	0,286

Anexo J - Dados referentes ao efeito da categoria reprodutiva (dados agrupados) sobre a taxa de fertilidade das cabras inseminadas, com suas respectivas análises estatísticas.

Análise 37 - Efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de fertilidade das cabras

Categoria reprodutiva*	Prenhez		Total
	Positiva	Negativa	
Cabrita + Seca + desconhecida	32,73% (18/55)	41,82% (23/55)	74,55% (41/55)
Lactante	16,36% (09/55)	9,09% (05/55)	25,45% (14/55)
Total	49,09% (27/55)	50,91% (28/55)	100% (55/55)

* Categorias agrupadas

Análise 38 - Comparação da taxa de prenhez entre as categorias 1 (cabrita + seca + desconhecida) e 2 (lactante)

Frequência	1	2	Total
Pos.	18	9	27
Neg.	23	5	28
Total	41	14	55

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	1,735	1	0,188

Anexo K - Análises estatísticas da Tabela 16.

Análise 39 - Frequência de distribuição dos locais de deposição do sêmen no trato genital da fêmea, durante a IA, por tratamento

Frequência	T1	T2	Total
PC-IU	25	27	52
PC-IC	1	0	1
C-IU	1	1	2
Total	27	28	55

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	1,059	2	0,589

Anexo L - Análises estatísticas das Tabelas 17, 18 e 19.

Análise 40 - Frequência de distribuição do tipo de muco observado durante a IA, entre tratamentos

Frequência	T1	T2	Total
Cristalino	6	7	13
Cristalino-estriado	1	0	1
Estriado	16	17	33
Estriado-caseoso	2	3	5
Caseoso	2	1	3
Total	27	28	55

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	1,623	4	0,805

Análise 41 - Comparação entre as taxas de prenhez dos diversos tipos de muco observados durante a inseminação

Frequência	1*	2*	3*	1-2*	2-3*	Total
Gestante	2	19	2	0	4	27
Não gestante	11	14	1	1	1	28
Total	13	33	3	1	5	55

* 1= muco cristalino; 2= estriado; 3= caseoso; 1-2= cristalino a estriado; 2-3= estriado a caseoso.

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	10,107	4	0,039

Análise 42 - Comparação entre as taxas de prenhez dos tipos de muco cristalino e estriado

Frequência	Cristalino	Estriado	Total
Gestante	2	19	21
Não gestante	11	14	25
Total	13	33	46

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	6,691	1	0,010

Análise 43 - Comparação entre as taxas de prenhez dos tipos de muco cristalino e caseoso

Frequência	Cristalino	Caseoso	Total
Gestante	2	2	4
Não gestante	11	1	12
Total	13	3	16

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	3,419	1	0,064

Análise 44 - Comparação entre as taxas de prenhez dos tipos de muco estriado e caseoso

Frequência	Estriado	Caseoso	Total
Gestante	19	2	21
Não gestante	14	1	15
Total	33	3	36

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,094	1	0,760

Anexo M - Análises estatísticas da Tabela 20.

Análise 45 - Comparação da duração do cio, em horas, entre os cios naturais e induzidos

Cio	Média	DP	P
Natural	38,77	13,95	0,7616
Induzido	35,83	14,47	

Análise 46 - Comparação do intervalo de cios, em dias, entre os cios naturais e induzidos

Cio	Média	DP	P
Natural	13,50	7,34	0,000
Induzido	8,11	1,72	

Análise 47 - Comparação da manifestação do cio, ao longo do dia, entre os cios naturais e induzidos

Frequência	Cios naturais	Cios induzidos	Total
Manhã (6:00)	32	54	86
Meio-dia	15	26	41
Tarde (18:00)	18	27	45
Total	65	107	172

Teste Estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	0,131	2	0,937

Análise 48 - Comparação da distribuição por classe de intervalo entre cios, entre os cios naturais e induzidos

Duração do ciclo/Tipo de cio	Média	DP	P
<10 dias / Natural (1)	4,96	0,30	0,0001
< 10 dias / Induzido (2)	7,94	0,23	0,0001
10-17 dias / Natural (3)	14,50	1,08	0,0001
10-17 dias / Induzido (4)	10,50	0,88	0,0001
17-24 dias / Natural (5)	19,47	0,26	0,0001

	1	2	3	4	5
1	-	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
2	0,0001	-	0,0001	0,0059	0,0001
3	0,0001	0,0001	-	0,0050	0,0001
4	0,0001	0,0059	0,0050	-	0,0001
5	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	-

Anexo N - Análises estatísticas das Tabelas 12 e 21.

Análise 49 - Comparação do intervalo da aplicação de PGF2 α ao início do cio, em horas, entre os cios induzidos, inseminados ou não

Cio	Média	DP	P
Inseminado	45,67	9,28	0,0001
Não inseminado	41,04	20,33	

Análise 50 - Comparação do intervalo entre cios, em dias, entre os cios naturais e induzidos inseminados

Cio	Média	DP	P
Natural	13,67	7,29	0,0001
Induzido e inseminado	8,17	1,69	

Análise 51 - Comparação da duração do cio, entre os cios induzidos, inseminados e não inseminados, e naturais

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de quadrados	Quadrado médio	F	P
Modelo	2	1862,7602	931,3801	4,75	0,0098
Erro	169	33138,6584	196,0867		
Total	171	35001,4186			

Coefficiente de variação: 37,91

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste		
	Cios naturais	Cios induzidos não inseminados	Cios induzidos inseminados
SNK (P<0,05)	a	a	b

Análise 52 - Comparação do período de manifestação do cio, entre os cios induzidos, inseminados e não inseminados, e naturais

Manifestação	Frequência	Porcentagem	Freq. acumulada	Perc. acumulada
Manhã (6:00)	86	50,00	86	50,00
Meio-dia	41	23,80	127	73,80
Tarde (18:00)	45	26,20	172	100,00

Teste estatístico	Valor	GL	P
Qui-Quadrado	21,64	2	0,001

Análise 53 - Comparação da distribuição por classe do intervalo entre cios, entre os cios induzidos, inseminados e não inseminados, e naturais

Duração do ciclo/Tipo de cio	Média	DP	P
<10 dias / Natural (1)	5,02	0,30	0,0001
< 10 dias / Induzido inseminado (2)	8,01	0,23	0,0001
10-17 dias / Natural (3)	14,50	1,07	0,0001
10-17 dias / Induzido inseminado(4)	10,50	0,87	0,0001
17-24 dias / Natural (5)	19,47	0,26	0,0001

	1	2	3	4	5
1	-	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
2	0,0001	-	0,0001	0,0068	0,0001
3	0,0001	0,0001	-	0,0047	0,0001
4	0,0001	0,0068	0,0047	-	0,0001
5	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	-

Tabela 25 - Comparação do intervalo da aplicação da PGF2 α ao início do cio e de sua duração, entre a primeira e segunda aplicações de PGF2 α

1ª aplicação de PGF 2 α		2ª aplicação de PGF 2 α	
Resposta à PGF2 α (h)	Duração X do cio (h)	Resposta à PGF2 α (h)	Duração X do cio (h)
6 (n = 7)	40,28	21 (n = 1)	42
15 (n = 3)	31	30 (n = 6)	40
30 (n = 5)	45	39 (n = 11)	31,36
39 (n = 7)	45	45 (n = 1)	32,57
45 (n = 9)	38,66	54 (n = 20)	27,45
54 (n = 9)	36	63 (n = 2)	39
63 (n = 2)	22,5	78 (n = 1)	57
69 (n = 2)	61,5	-	-
111 (n = 1)	39	-	-