

Progesterona plasmática e fertilidade de fêmeas caprinas submetidas à sincronização do estro com prostaglandina F2 α

[Plasmatic progesterone and fertility of goats submitted at estrus synchronization with Prostaglandin F2 α]

A.P. Siqueira¹, R.M.P. Oliveira¹, J.M. Silva Filho^{2*}, M.S. Palhares², J.F. Fonseca³, J.H. Bruschi⁴, M.C.M. Bruschi⁵

¹Aluna de pós-graduação - EV-UFGM - Belo Horizonte, MG

²Escola de Veterinária - UFGM - Belo Horizonte, MG

³Embrapa Caprinos e Ovinos - Coronel Pacheco, MG

⁴Embrapa Gado de Leite - Coronel Pacheco, MG

⁵Médica veterinária autônoma

RESUMO

Avaliou-se a resposta ao protocolo de sincronização do estro com duas doses de prostaglandina F2 α (22,5 μ g) intervaladas de 10 dias, por meio da mensuração da concentração de progesterona plasmática, bem como a taxa de concepção das cabras após a inseminação artificial, de acordo com as diferentes respostas obtidas. Utilizaram-se 23 fêmeas e dois reprodutores da raça Toggenburg. A mensuração da progesterona plasmática foi realizada no dia da primeira aplicação de PGF2 α (D0), no D5, no dia da segunda aplicação de PGF2 α (D10), no D15, no D20 e no D33. A resposta positiva à PGF2 α foi determinada pela queda da concentração de progesterona a valores abaixo de 1,5ng/mL, mensurada nos dias cinco e 15. As fêmeas foram distribuídas em três grupos. O grupo I foi composto por fêmeas que responderam às duas aplicações; o grupo II por fêmeas que não responderam à primeira aplicação e responderam à segunda aplicação; e o grupo III por fêmeas que responderam à primeira aplicação e não responderam à segunda aplicação, foram inseminadas e não conceberam. A presença de um corpo lúteo funcional, no momento das aplicações, determinou a resposta ao protocolo. As diferentes respostas das fêmeas ao protocolo, grupo I e II, não influenciaram as taxas de concepção.

Palavras-chave: caprino, progesterona, prostaglandina F2 α , taxa de concepção

ABSTRACT

Plasmatic progesterone concentrations were evaluated during the synchronization protocol with two doses of 22.5 μ g of Prostaglandin F2 α , 10-day interval, and the conception rate of females in accordance to the reply to the protocol. Twenty-three female goats and two sexually mature Toggenburg bucks were used. Blood was sampled on day 0 (1st PGF2 α injection), and on the following days 5, 10 (2nd PGF2 α injection), 15, 20, and 33. The positive reply to the PGF2 α was determined when the progesterone concentrations fell to values below 1.5ng/mL at days 5 and 15. The females were divided in three groups: Group I: females that responded to the two PGF2 α applications; Group II: females that responded only to the second application; Group III: females that responded the first application, did not respond to the second application, were inseminated but did not conceive. The presence of a functional corpus luteum at the moment of the applications determined the reply to the protocol. There was no difference in the conception rates between females that responded to the two PGF2 α applications or responded only to the second application.

Keywords: goat, progesterone, Prostaglandin F2 α , conception rate

Recebido em 8 de agosto de 2011

Aceito em 10 de janeiro de 2012

*Autor para correspondência (corresponding author)

E-mail: silvafilhojm@gmail.com

INTRODUÇÃO

A sincronização do estro e a da ovulação são práticas importantes que têm sido aplicadas com sucesso para o aumento da eficiência reprodutiva dos animais. Em caprinos, podem ser obtidas pela redução da fase lútea, com o uso de agentes luteolíticos, como análogos da prostaglandina, ou prolongando-se a duração da fase lútea, por meio de progestágenos, em associação com a gonadotrofina coriônica equina (eCG), gonadotrofina coriônica humana (hCG) e hormônio folículo estimulante (FSH), nas fêmeas em anestro estacional (Amoah e Gelaye, 1990). Sistemas de controle do ciclo estral com o uso de prostaglandina são baseados na redução da fase lútea mediante a regressão do corpo lúteo. Dessa forma, o tratamento só é eficiente em animais que estejam ciclando durante a estação reprodutiva.

A presença de um corpo lúteo responsivo à PGF2 α , no momento das aplicações, determina o percentual de animais manifestando estro. Assim, Ott *et al.* (1980b) demonstraram que a sensibilidade do corpo lúteo, na espécie caprina, é observada a partir do quarto dia do ciclo estral. No entanto, Prosperi *et al.* (2004) verificaram que 69,2% das cabras estudadas manifestaram estro após a aplicação de PGF2 α , no terceiro dia do ciclo estral.

A variabilidade da resposta à prostaglandina F2 α pode ser atribuída à condição ovariana do animal, no momento da aplicação. Assim, o dia do ciclo no qual a administração da droga é realizada influencia no intervalo para o início do estro. Dentro desse contexto, quando a administração, em ovinos, foi feita no início da fase luteal, considerando-se o dia da ovulação como dia zero, o intervalo entre a aplicação da PGF2 α e o início do estro foi mais curto em relação aos tratamentos feitos nos estágios intermediários e finais do ciclo estral. Nesta fase, há maior número de folículos em crescimento no ovário, sendo uma porcentagem maior destes capaz de ovular (Houghton *et al.*, 1995). Se um folículo em crescimento estiver presente no momento da aplicação da PGF2 α , este continuará seu desenvolvimento, podendo o estro e a ovulação ocorrerem em um curto intervalo de tempo após o tratamento. Entretanto, se a luteólise for induzida na presença de um folículo dominante de uma onda, que se encontra em

regressão, uma nova onda deverá emergir e crescer, de forma que o estro e a ovulação ocorrerão mais tarde (Menchaca e Rubianes, 2004). Além disso, Wiley *et al.* (1997) observaram que, uma vez que concentrações basais de progesterona foram atingidas (<0,2 ng/mL), o intervalo para o início do estro foi constante (24-26 horas), após a administração de PGF2 α em ovelhas. A variação observada no intervalo da resposta à PGF2 α , quando de sua administração ao acaso durante o ciclo, pode, portanto, ser parcialmente explicada pelos níveis de progesterona presentes no momento do tratamento.

Visando-se melhorar a sincronização do estro, tem sido preconizada a administração de duas doses de PGF2 α , a intervalos de nove a 12 dias. A primeira aplicação 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; Rubianes e Menchaca, 2003).

A mensuração da progesterona plasmática é um método auxiliar na indicação da condição reprodutiva da fêmea, notadamente no que diz respeito à ciclicidade ovariana (Léga *et al.*, 2005). Nas fêmeas ruminantes, há alternância de valores abaixo de 0,5ng/mL durante o período próximo à ovulação, e acima de 1,0ng/mL durante a maior parte da fase luteal (Thimonier, 2000). Além disso, alguns estudos que avaliaram o perfil de secreção de progesterona durante o ciclo estral da cabra demonstraram que a sua secreção aumenta de maneira significativa a partir do quarto e quinto dias da fase luteal, em relação ao dia do estro (Akusu *et al.*, 1990; Ferraz, 2007).

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta ovulatória por meio da mensuração da concentração de progesterona plasmática, bem como a taxa de concepção de cabras submetidas a um protocolo de sincronização do estro com duas doses de prostaglandina F2 α intervaladas de 10 dias.

MATERIAL E MÉTODOS

O período experimental compreendeu os meses de março a junho de 2005, o qual representa a estação fisiológica de reprodução da espécie caprina na região da Zona da Mata em Minas

Gerais. 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 (*Saccharum officinarum*), dependendo da disponibilidade, e concentrado balanceado de acordo com a produção de leite, fornecido duas vezes ao dia. Os reprodutores recebiam rolão de milho e capim-elefante picado duas vezes ao dia. Água e sal mineral foram fornecidos à vontade.

Utilizaram-se 23 cabras da raça Toggenburg, de diferentes categorias reprodutivas – nulíparas, pluríparas não lactantes e lactantes –, em idade reprodutiva e livres de patologias ligadas à reprodução. Dois reprodutores da mesma raça foram utilizados como doadores de sêmen para a realização da inseminação artificial das cabras, sendo que eles apresentavam-se sexualmente maduros, com idade e peso vivo médios de quatro anos e 60 kg, respectivamente.

A sincronização do estro foi realizada utilizando-se duas aplicações de 22,5µg de prostaglandina sintética (d-cloprostenol) (Prolise® (fco 20mL) – Tecnopec), na submucosa vulvar, intercaladas de 10 dias. Visando estudar com maior profundidade o protocolo de sincronização do estro, as fêmeas foram submetidas a coletas de sangue em dias determinados, a fim de se avaliar a concentração plasmática de progesterona. Assim, foram realizadas no dia da primeira aplicação de PGF2α (D0), cinco dias após (D5), no momento da segunda aplicação de PGF2α (D10), no D15, no D20 e no D33.

As fêmeas receberam uma única dose de sêmen 12 horas após a aceitação da monta. A inseminação artificial foi realizada pelo método de pinçamento do cérvix descrito por Siqueira (2006). O sêmen utilizado foi coletado pelo método da vagina artificial. A diluição do sêmen foi feita em meio diluidor Tris-frutose-gema de ovo a 2,5% (Evans e Maxwell, 1987), de forma a se obter a concentração final de 150x10⁶ espermatozoides móveis por dose inseminante. O sêmen era envasado em palhetas de 0,25mL e resfriado a 5°C em um *container* descrito por Palhares (1997) e armazenado por até 24 horas.

O diagnóstico de gestação foi realizado aos 21, 30 e 60 dias, por meio de ultrassonografia

transretal, utilizando-se ultrassom Aloka, com probe de 5MHZ, modelo SSD-500 (Aloka, modelo SSD – 500, Tokyo, Japan). Considerou-se também o monitoramento diário do retorno ao cio.

As fêmeas foram distribuídas em três grupos, com base na resposta ao protocolo de sincronização, determinada por mensuração da concentração plasmática de progesterona, e no diagnóstico de gestação, realizado pela ultrassonografia. O grupo I foi formado por fêmeas que responderam às duas aplicações de PGF2α e que ficaram ou não gestantes; o grupo II por fêmeas que não responderam à primeira aplicação de PGF2α, responderam à segunda aplicação e ficaram ou não gestantes; o grupo III por fêmeas que responderam à primeira aplicação de PGF2α, não responderam à segunda aplicação e, embora tenham apresentado algumas características externas de estro e tenham sido inseminadas, ficaram vazias.

Considerou-se resposta positiva à aplicação da prostaglandina F2α a observação de queda acentuada da concentração de progesterona, mensurada nas datas imediatamente após a aplicação (D5 e D15), para valores abaixo de 1,5ng/mL. O sangue foi coletado por punção na veia jugular, utilizando-se tubos vacutainer heparinizados. Imediatamente após a coleta, os tubos foram acondicionados sobre gelo a 5°C até o momento da centrifugação, realizada a 2.500g por 15 minutos. O plasma foi, então, conservado a -20°C até o momento da análise laboratorial. As análises foram feitas pela técnica de radioimunoensaio em fase sólida, utilizando-se *kit* comercial (Coat-a-Count Progesterone Kit®, Siemens Medical Solutions Diagnostics Co, Los Angeles, CA, USA), em laboratório de endocrinologia. A sensibilidade e os coeficientes de variação intraensaio e interensaio foram de 0,02ng/mL, 8,8 % e 9,7 %, respectivamente.

As concentrações plasmáticas de progesterona segundo os grupos estabelecidos, de acordo com a resposta à PGF2α, foram submetidas à análise de variância pelo procedimento GLM. As médias foram comparadas pelo teste SNK. Os dados referentes à taxa de concepção dos grupos em resposta à PGF2α foram avaliados por distribuição de frequência, e foi aplicado o teste de qui-quadrado. As análises foram processadas

pelo programa estatístico SAS (SAS, 1999) e significância de 95% ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tab. 1, encontram-se os valores médios de progesterona para todos os dias avaliados, em cada grupo experimental. Os valores de progesterona abaixo de 1,5ng/mL encontrados nos dias D5 e D15 caracterizam fêmeas que

apresentaram corpo lúteo responsivo, no momento da aplicação de PGF2 α . Nessas datas, ou seja, cinco dias após a aplicação da PGF2 α , o padrão de progesterona reflete a rapidez de resposta à PGF2 α , o intervalo da aplicação da PGF2 α à ovulação, bem como do intervalo da aplicação de PGF2 α à produção do padrão de progesterona mensurável, advindo de novo corpo lúteo formado.

Tabela 1. Valores médios de progesterona plasmática de ciclos advindos da luteólise induzida com prostaglandina F2 α , via submucosa vulvar, em intervalos de 10 dias, em cabras da raça Toggenburg, considerando-se as diferentes respostas e dias após a aplicação

Grupo	Nº de fêmeas	Valores de progesterona (ng/mL)					
		D0 (1ª PGF2 α)	D5	D10 (2ª PGF2 α)	D15	D20	D33
Grupo I ¹	14	7,02±	0,76±	5,81±	1,03±	6,00±	8,60±
		0,75Aa	0,75Bb	0,75Aa	0,75Ab	0,81ABa	0,75Aa
Grupo II ²	7	0,72±	4,38±	8,21±	0,66±	13,09±	6,33±
		1,77Bc	1,77Abc	1,77Aab	1,77ABc	1,91Aa	1,77Abc
Grupo III ³	2	7,37±	0,46±	0,33±	0,12±	0,22±	9,34±
		0,29Ab	0,29Bc	0,29Bc	0,29Bc	0,29Bc	0,29Aa

Médias na linha seguidas por letras minúsculas diferentes diferem entre si ($P < 0,05$).

Médias nas colunas seguidas por letras maiúsculas diferentes diferem entre si ($P < 0,05$).

¹Fêmeas que responderam às duas aplicações de PGF2 α e que ficaram ou não gestantes. ²Fêmeas que não responderam à primeira aplicação de PGF2 α , responderam à segunda aplicação e ficaram ou não gestantes. ³Fêmeas que responderam à primeira aplicação de PGF2 α , não responderam à segunda aplicação e, embora tenham apresentado características externas de cio e tenham sido inseminadas, ficaram vazias.

As fêmeas que não responderam à primeira aplicação de PGF2 α (grupo II) não apresentavam corpo lúteo funcional no momento da aplicação, o que está demonstrado pela baixa concentração de progesterona (Tab. 1). Entretanto, quando novamente avaliadas cinco dias após (D5), apresentaram concentração de progesterona acima de 1,5ng/mL, condizente com a presença de um corpo lúteo funcional e responsivo à PGF2 α , com exceção de uma cabra, cuja concentração alcançou apenas 0,90ng/mL. Estes resultados assemelham-se aos de alguns estudos que avaliaram o perfil de secreção de progesterona durante o ciclo estral da cabra e demonstraram que a sua secreção aumenta de maneira significativa, a partir do quarto e quinto dias da fase lútea, em relação ao dia do estro (Akusu *et al.*, 1990; Ferraz, 2007), assim como de estudos que demonstram a responsividade do corpo lúteo na cabra a partir do terceiro e quarto dias (Ott *et al.*, 1980b; Proserpi *et al.*, 2004).

Os resultados obtidos no presente experimento reforçam afirmações de alguns estudos (Ott *et*

al., 1980b; Rubianes e Menchaca, 2003) sobre a importância de o protocolo de sincronização ser realizado com duas doses de PGF2 α , em intervalos de nove a 12 dias. No momento da primeira aplicação de PGF2 α , a luteólise ocorre somente naqueles animais que apresentam um corpo lúteo responsivo à PGF2 α . Entretanto, na segunda aplicação, a grande maioria, ou a totalidade dos animais, apresenta um corpo lúteo responsivo (Ott *et al.*, 1980b), como pode ser observado nos grupos I e II (Tab. 1).

A resposta positiva das fêmeas após a primeira e segunda aplicações de PGF2 α (grupo I – 14/23), ou apenas após a segunda aplicação (grupo II – 7/23), não influenciou as taxas de concepção (Tab. 2). No entanto, a aplicação das duas doses de PGF2 α aumentou o número de fêmeas que foram capazes de responder, manifestar cio e conceber (21/23) após a segunda aplicação, a qual foi seguida de observação do cio e inseminação artificial. Estes resultados demonstram que a resposta das fêmeas com redução das concentrações de progesterona,

Progesterona plasmática...

manifestação de cio e, conseqüentemente, a concepção após a inseminação artificial, é fortemente influenciada pela presença de um corpo lúteo funcional após a segunda aplicação. Outros fatores inerentes ao sêmen e ao método

de inseminação, bem como características individuais das fêmeas, devem sempre ser considerados na avaliação das taxas de concepção.

Tabela 2. Taxas de concepção de fêmeas caprinas da raça Toggenburg que apresentaram diferentes respostas a um protocolo de sincronização do estro, utilizando duas doses de prostaglandina F2 α , via submucosa vulvar, em intervalos de 10 dias

Respostas à PGF2 α	Número de cabras	Taxa de concepção (%)
Grupo I ¹	14 (10) [*]	71,43
Grupo II ²	07 (05)	71,43
Grupo III ³	02 (0,0)	0,00
Total	23 (15)	65,22

¹Fêmeas que responderam às duas aplicações de PGF2 α e que ficaram ou não gestantes. ²Fêmeas que não responderam à primeira aplicação de PGF2 α , responderam à segunda aplicação e ficaram ou não gestantes. ³Fêmeas que responderam à primeira aplicação de PGF2 α , não responderam à segunda aplicação e, embora tenham apresentado características externas de cio e tenham sido inseminadas, ficaram vazias.

^{*}Números entre parênteses representam as fêmeas que ficaram gestantes.

CONCLUSÕES

O estro pode ser eficientemente sincronizado por meio de duas aplicações de prostaglandina, intervaladas de 10 dias. A presença de um corpo lúteo responsivo à PGF2 α , no momento das aplicações, determina o percentual de animais capazes de manifestarem estro, serem inseminados e conceberem, o que pode ser mensurado pelas concentrações de progesterona plasmática no momento das aplicações.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos proprietários da Granja Água Limpa, localizada no município de Piau, Minas Gerais, pela cessão dos animais e das instalações onde foi realizado o experimento; e ao Dr. Jeferson Fonseca, à Prof^a Eunice Ôba e à Joanna Souza, por possibilitarem a realização das análises de progesterona.

REFERÊNCIAS

AKUSU, M.O.; NDUKA, E.; SOYEBO, B.A. Peripheral plasma levels of progesterone and oestradiol-17 β of West African dwarf goats during the oestrous cycle. In: CONFERENCE OF THE AFRICAN SMALL RUMINANT RESEARCH NETWORK, 1990, Nairobi, Kenya. *Proceedings...* Nairobi, Kenya: African Small Ruminant Research and Development, 1990. Disponível em: <<http://www.fao.org/Wairdocs/ILRI/x5520B/x5520b01.htm>> Acessado em: 5 mar 2010.

AMOA, E.A.; GELAYE, S. Superovulation, synchronization and breeding of does. *Small Ruminant Res.*, v.3, p.63-72, 1990.

EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. *Salamon's artificial insemination of sheep and goats*. Australia: Butterworths Pty Limited, 1987. 194 p.

FERRAZ, R.C.N. *Comportamento sexual à puberdade de fêmeas Saanen, Anglonubiana e suas meio-sangue criadas em região de baixa latitude*. 2007. 58f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, BA.

HOUGHTON, J.A.; LIBERATI, N.; SCHRICK, F.N. *et al.* Day of estrous cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes. *J. Anim. Sci.*, v.73, p.2094-2101, 1995.

LÉGA, E.; TONIOLLO, G.H.; FERRAUDO, A.S. Concentração sérica de progesterona para diagnóstico precoce de gestação na cabra doméstica. *Cienc. Anim. Bras.*, v.6, p.35-40, 2005.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod. Fertil. Dev.*, v.16, p.403-414, 2004.

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, 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. 246f. Tese (Doutorado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

PROSPERI, C.P.; TORRES, C.A.A.; MAFFILI, V.A. *et al.* Sensibilidade do corpo lúteo à prostaglandina F2 α (PGF2 α) no terceiro dia pós-estro e utilização de intervalos de sete dias para induzir e sincronizar o estro em cabras. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.28, p.143-149, 2004.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A.; CARBAJAL, B. Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2 α . *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, p.47-55, 2003.

SAS. Statistical Analysis System Institute. SAS/STAT Procedure guide for personal computers. Version 5, SAS Inst. Cary, NC. 1999.

SIQUEIRA, A.P. *Inseminação artificial em caprinos com sêmen resfriado*. 2006. 106f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

THIMONIER, J. Determination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone. *INRA Prod. Anim.*, v.13, p.177-183, 2000.

WILEY, T.M.; CARDEMS, H.; POPE, W.F. Effect of the rate of progesterone decline at luteolysis on the ovulatory follicles and subsequent estrous cycle length in ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.46, p.79-87, 1997.