

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

EFEITOS DE DIFERENTES FONTES DE GORDURA
ALIMENTAR NA RESPOSTA A ASPIRAÇÃO FOLICULAR DE
CABRAS ANGLO-NUBIANAS

Ricardo Perecin Nociti
Médico Veterinário

Jaboticabal SP

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

EFEITOS DE DIFERENTES FONTES DE GORDURA
ALIMENTAR NA RESPOSTA A ASPIRAÇÃO FOLICULAR DE
CABRAS ANGLO-NUBIANAS

Ricardo Perecin Nociti
Orientadora: Profa.Dra. Vera Fernanda Martins H. de Lima
Coorientador: Prof.Dr. José Jurandir Fagliari
Coorientadora: Dra. Maria Emilia Franco Oliveira

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Reprodução Animal).

Jaboticabal SP

2014

N758e Nociti, Ricardo Perecin
Efeitos de diferentes fontes de gordura alimentar na resposta
a aspiração folicular de cabras Anglo-Nubianas / Ricardo Perecin
Nociti. - - Jaboticabal, 2014
X, 69 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014
Orientadora: Vera Fernanda Martins Hossepian de Lima
Banca examinadora: Maria Emilia Franco Oliveira, Jeferson
Ferreira da Fonseca, Marcus Antônio Rossi Feliciano
Bibliografia

1. *Gordura Alimentar*. 2. LOPU. 3. Cabras. I. Título. II. Jaboticabal-
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:636.082:636.39

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EFEITOS DE DIFERENTES FONTES DE GORDURA ALIMENTAR NA RESPOSTA A ASPIRAÇÃO FOLICULAR DE CABRAS ANGLO-NUBIANAS

AUTOR: RICARDO PERECIN NOCITI

ORIENTADORA: Profa. Dra. VERA FERNANDA MARTINS HOSSEPIAN DE LIMA

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. MARIA EMILIA FRANCO OLIVEIRA

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. JOSE JURANDIR FAGLIARI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM MEDICINA VETERINÁRIA, Área: REPRODUÇÃO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARIA EMILIA FRANCO OLIVEIRA

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. JEFFERSON FERREIRA DA FONSECA

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária / Coronel Pacheco/MG

Prof. Dr. MARCUS ANTONIO ROSSI FELICIANO

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Data da realização: 31 de julho de 2014.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Ricardo Perecin Nociti – Filho de Batista Nociti Júnior e Darci Lara Perecin Nociti, nascido em 21 de Julho de 1985, na cidade de Jaboticabal, São Paulo, iniciou o curso de Medicina Veterinária na FCAV-UNESP de Jaboticabal em Março de 2006, de 2008 a 2009 foi Bolsista FAPESP de Iniciação Científica sob orientação do Professor Dr. José Jurandir Fagliari, em 2010 foi bolsista de monitoria da disciplina de Semiologia Veterinária, cursou o estágio obrigatório de conclusão de curso na Universidade Estadual de Ohio, EUA, sob supervisão do Professor Dr. Carlos Roberto Fontes Pinto, tornou-se Médico Veterinário em Fevereiro de 2011. No ano de 2011 fez especialização em Sistemas de Produção Animal pela FMVA-UNESP. Em agosto de 2012 iniciou o Mestrado pelo Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Reprodução Animal) na FCAV-UNESP sob orientação da Professora Dra. Vera Fernanda Martins Hossepian de Lima e co-orientação do Professor. Dr. José Jurandir Fagliari e da Professora Dra. Maria Emilia Franco Oliveira.

EPIGRAFE

O amor a todas as coisas vivas neste mundo é o atributo mais nobre do homem (Charles Darwin)....

A persistência é o caminho do êxito (Charles Chaplin). O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário (Albert Einstein). A vida vai ficando cada vez mais dura perto do topo (Friedrich Nietzsche). Determinação coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estivermos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho (Dalai Lama).

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais Batista e Darci

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Aos meus Pais pela paciência, amor e dedicação, sobretudo por me ensinarem a viver.

Aos meus irmãos Rafael (*in memorian*), Rodolfo e Tatiana por serem os melhores irmãos do mundo.

À Sabrina Ramos de Carvalho, por ser companheira, melhor amiga, mostrar o lado bom da vida e louca o suficiente para se casar comigo, obrigado por todo o carinho amor e dedicação, você me faz muito feliz, te amo.

À Minha avó e madrinha Jenny e a minha avó Elza (*in memorian*), por todos os conselhos, carinho e amor durante toda a minha vida.

Aos meus Tios Marcos e Teresinha, Plínio e Jacyra, Paulo e Eunice e Jeremias e Célia por estarem presentes me ajudando e orientando todas as vezes que precisei sempre com muita paciência, carinho e amor.

Aos meus Primos pela amizade e amor fraternal durante todos esses anos.

À república Cana Brava, por sempre me receberem, de braços abertos.

Aos meus amigos Ana Paula, Douglas, Diego, Luciana, Gabriel Guilherme, Paulo, Priscila, Roberta e Walter, por sempre me mostrar o lado cômico da Vida.

À Professora Vera Fernanda Martins Hossepian de Lima, por me orientar, me ensinar a questionar e a pensar de maneira mais clara e concisa, muito obrigado por confiar em mim.

Ao Professor José Jurandir Fagliari, pelo exemplo de profissionalismo, orientação, suporte e amizade.

À Professora Maria Emilia Franco Oliveira, pelos ensinamentos e orientações, por acreditar no meu trabalho e nas minhas ideias e sempre mostrar o que realmente é possível.

Ao Dr. Marcus Antônio Rossi Feliciano, pelo trabalho, empenho, correções e sugestões prestadas a este trabalho, mas principalmente pela amizade e mostrar que as coisas podem ser mais simples.

Ao Professor Wilter Ricardo Russiano Vicente, pelos conselhos, conversas e principalmente por me acolher como um dos seus e me emprestar toda a sua equipe.

Ao Professor Carlos Augusto Araújo Valadão, pelo suporte do centro cirúrgico e por disponibilizar a sua equipe de Anestesistas.

Ao Dr. Jeferson Ferreira da Fonseca, pela participação na banca de avaliação, por ser tão solícito e mostrar seu ponto de vista em todos os assuntos abordados neste trabalho.

Ao Dr. Bruno Biagioli, por abrir as portas da Caprinocultura permitindo que este trabalho fosse executado e pelo suporte e orientações em relação ao manejo dos animais.

Aos amigos de Pós-Graduação:

Luciana Cristina Padilha Nakaghi, por todos os ensinamentos e ajuda no laboratório e por toda a dedicação prestada a este trabalho;

A Luciana Diniz Rola, pelo companheirismo, trabalho e trocas de experiências;

À Felipe Farias Pereira da Câmara Barros, pelos ensinamentos no centro cirúrgico e principalmente por me apresentar a equipe da Obstetrícia;

À Guilherme Augusto Motta, pelo auxílio durante todo este trabalho;

À Cassia Maria Molinaro Coelho, pelo trabalho tempo e por toda a ajuda anestésica.

À todos da equipe da Obstetrícia sem vocês isso não seria possível, muito obrigado Renata Sitta Mariano, Ricardo Andrés Ramirez Uscategui, Leandro Coutinho e Victor Santos.

À Amanada Nonato, pela paciência, amizade, tempo e ensino do Laboratório.

Aos funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Laboratório de Apoio a Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Laboratório de Nutrição Animal e do Setor de Caprinocultura da FCAV-UNESP. Especialmente ao Seu Edson, por toda presteza, atenção, esforço e principalmente pelas conversas durante o café.

Agradecer é muito pouco, pois tudo que consegui foi fruto de muito suor, sangue e lágrimas de todos vocês, muito obrigado por transformar o impossível em realidade, participarem da minha vida e meu trabalho de forma tão divertida.

À **FAPESP** - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão da bolsa, o que tornou a realização deste trabalho possível.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	IV
ABSTRACT-	V
LISTA DE FIGURAS	VI
LISTA DE TABELAS	VIII
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. NUTRIÇÃO E A REPRODUÇÃO	3
2.2. ESTIMULAÇÃO OVARIANA	4
2.3. ASPIRAÇÃO FOLICULAR POR VIDEOLAPAROSCOPIA	5
2.4. PARÂMETROS SANGUÍNEOS.....	6
3. HIPÓTESE	9
4. OBJETIVOS	9
4.1. OBJETIVO GERAL.....	9
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
5. MATERIAL E MÉTODOS	10
5.1. LOCAL DO EXPERIMENTO	10
5.2. ANIMAIS.....	10
5.3. GRUPOS E TRATAMENTOS	11
5.4. ULTRASSONOGRRAFIA OVARIANA.....	12
5.5. ASPIRAÇÃO FOLICULAR.....	13
5.6. AVALIAÇÃO OOCITÁRIA E MATURAÇÃO <i>IN VITRO</i>	15
5.7. AVALIAÇÕES SANGUÍNEAS.....	16
5.8. ANÁLISE DOS DADOS	18

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
6.1. DESEMPENHO DOS ANIMAIS	19
6.2. ULTRASSONOGRAFIA.....	19
6.3. ASPIRAÇÃO FOLICULAR	20
6.4. AVALIAÇÃO OOCITÁRIA E MATURAÇÃO <i>IN VITRO</i>	22
6.5. CORRELAÇÕES ENTRE OS ACHADOS DA ULTRASSONOGRAFIA E DA VIDEOLAPAROSCOPIA PARA ASPIRAÇÃO FOLICULAR.	23
6.5.1. AVALIAÇÕES SANGUÍNEAS	25
7. CONCLUSÕES	32
8. REFERÊNCIAS	33
9. ANEXOS	41

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 007244/13 do trabalho de pesquisa intitulado "**Efeito de diferentes fontes de gordura protegida na dieta de cabras Anglo-Nubiano submetidas ou não à protocolo de superestimulação sobre parâmetros da aspiração folicular**", sob a responsabilidade da Prof^a Dr^a Vera Fernanda Martins Hossepian de Lima, pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 11 de Abril de 2013.

Jaboticabal, 11 de Abril de 2013.


Prof. Dr. Andriago Barboza de Nardi
Coordenador - CEUA

EFEITOS DE DIFERENTES FONTES DE GORDURA ALIMENTAR NA RESPOSTA A ASPIRAÇÃO FOLICULAR DE CABRAS ANGLO-NUBIANAS

Resumo - Para avaliar os efeitos de dietas alimentares utilizando fontes de gordura protegida (Megalac[®] ou linhaça) associada superestimulação hormonal sobre os parâmetros da aspiração folicular em cabras foram utilizadas 18 cabras da raça Anglo-Nubiano, clinicamente saudáveis e aptas a reprodução. Os animais foram divididos e alojados aleatoriamente em 3 grupos experimentais com 6 animais cada, sendo um grupo controle (C), com dieta utilizando-se o óleo de soja fonte de gordura alimentar, um grupo com dieta utilizando-se MEGALAC[®] (M) como fonte de gordura protegida, um grupo com dieta alimentar utilizando-se semente de linhaça (L) como fonte de gordura protegida. Todos os animais foram submetidos a ultrassonografia transretal para a avaliação da quantidade e do diâmetro folicular imediatamente antes da aspiração folicular por vídeo laparoscopia, os oócitos obtidos foram maturados *in vitro* e avaliados quanto a sua capacidade de maturação, para a uma melhor avaliação da resposta dos animais a dieta e ao procedimento de aspiração folicular foi coletada amostras de sangue de todos os animais para avaliação hematológica e da bioquímica sérica. Não houve diferença no escore de condição corporal e no ganho de peso dos animais. No exame ultrassonográfico foi notada diferença no diâmetro dos folículos observados entre o primeiro ($4,29 \pm 0,06$) e o segundo ($3,69 \pm 0,07$) ultrassom o diâmetro dos folículos considerados aspiráveis pelo ultrassom também diminuiu do primeiro ($5,05 \pm 0,06$) para o segundo ($4,71 \pm 0,13$) ultrassom. Notou-se uma maior média de folículos observados ($28,4 \pm 4,17$) e aspirados ($26,8 \pm 4,12$) e oócitos recuperados ($10,9 \pm 1,37$) no Grupo C na. As análises sanguíneas não mostrou diferença entre grupos, porém parâmetros sofreram alterações no período pós operatório com retorno a normalidade nos momentos seguintes.

Palavras-chave: gordura alimentar, LOPU, caprino

EFFECTS OF DIFFERENT DIETARY FAT SOURCES ON RESPONSES OF ANGLO NUBIANS GOATS FOLLICULAR ASPIRATION

Abstract- To evaluate the effects of diet with protected fat (Megalac® or linseed) associated with ovarian super-stimulation on an follicular aspiration parameters, 18 anglo-nubian goats, in perfect health, were used. The animals were divided in 3 experimental groups with 6 individuals per group, one control group, under a diet without protected fat with an ovarian super-stimulation protocol, one group under a diet with MEGALAC® and under an ovarian super-stimulation protocol, one group under a diet with linseed and under an ovarian super-stimulation protocol. All the animals were submitted to an ultrasound evaluation immediately before the laparoscopic ovum pick up (LOPU), all the obtained oocytes were classified and in vitro matured and evaluate as their ability to mature, to evaluate the responses of the animals, certified health and security of the diet and LOPU, blood samples were taken for evaluation of cell blood count, serum biochemistry profile. During the ultrasound exams were noticed a decrease in follicles diameter from the first($4,29 \pm 0,06$, mm) to second($3,69 \pm 0,07$, mm) ultrasound, and in viable follicles diameter from the first($5,05 \pm 0,06$, mm) to second ($4,71 \pm 0,13$, mm) ultasound. Animals from the group C had more follicles observed ($28,4 \pm 4,17$) and aspired ($26,8 \pm 4,12$) and more oocytes recovered ($10,9 \pm 1,37$), were noticed a decrease in number of thoses parameters in all groups from comparing the first LOPU with the second. Blood analyses did not shown any difference between gropus, however were significant changes on the post-surgical period, with a soon return to normality.

Keywords: Dietary fat, LOPU, caprine

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema dos tratamentos hormonais a que as fêmeas caprinas dos grupos C, M e L foram submetidas. 12
- Figura 2.** Esquema de coleta de sangue, as setas indicam o momento da coleta de sangue. 17
- Figura 3.** Fotografia de cabras da raça Anglo-Nubiano no local de experimentação, em baias individuais. 41
- Figura 4.** Fotografia das rações experimentais: (A) ração enriquecida com óleo de soja (grupo C); (B) ração enriquecida com semente de linhaça como fonte de gordura protegida (grupo L); e (C) ração enriquecida com MEGALAC como fonte de gordura protegida (grupo M). 43
- Figura 5.** Média das contagens de hemácias (Hem, $\times 10^6/\mu\text{L}$), teor de hemoglobina (hgb, g/dL), Hematócrito (HCT, %), volume globular médio (VGM, fL), hemoglobina globular média (HGM, pg), concentração de hemoglobina globular média (CHGM, g/dL), de acordo com os períodos. Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU). 44
- Figura 6.** Média das concentrações séricas de Colesterol total (COL mg/dL), Triglicerídeos (TRIG mg/dL), Glicose (GLIC mg/dL), Proteínas totais (PROT g/dL), Albumina (ALB g/dL) e Globulinas (GLOB g/dL) e os teores plasmáticos de Fibrinogênio (FB, mg/dL), de acordo com os períodos experimentais. Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos

subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU).

..... 45

Figura 7. Médias da atividade das enzimas Aspartato amino transferase (AST UI/L), Fosfatase alcalina (ALP U/L), Creatinoquinase (CK U/L) e Gama glutamil-transferase (GGT U/L), mg/dL) e das concentrações séricas de Uréia (UUV mg/dL), Creatinina (CREAT), de acordo com os períodos experimentais. .Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do Início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU). 46

Figura 8. Média das concentração séricas de Proteínas totais (PROT g/dL), Albumina (ALB g/dL) e Globulinas (GLOB g/dL) e os teores plasmáticos de Fibrinogênio (FB, mg/dL), nos momentos pré cirúrgicos (42 e 70) indicadas pelas setas e nos momentos pós cirúrgicos (43, 45, 47, 49, 71, 73, 75, 77) 47

Figura 9. Médias da atividade das enzimas Aspartato amino transferase (AST UI/L), Creatinoquinase (CK UI/L) nos momentos pré cirúrgicos (42 e 70) indicadas pelas setas e nos momentos pós cirúrgicos (43, 45, 47, 49, 71, 73, 75, 77)..... 48

Figura 10. Médias das concentrações séricas de COL (mg/dL), TRIG (mg/dL), GLIC (mg/dL), nos momentos de início do protocolo Ovsynch (30 e 65), pré cirúrgicos (42 e 70) indicadas pelas setas e pós cirúrgicos (43, 45, 47, 49, 71, 73, 75, 77)..... 49

Figura 11. Média da contagem de leucócitos totais (LT, $\times 10^3/\mu\text{L}$) e a porcentagem de leucócitos neutrófilos segmentados (NS) e leucócitos linfócitos (LINF) nos momentos pré cirúrgicos (42 e 70) indicadas pelas setas e nos momentos pós cirúrgicos (43, 45, 47, 49, 71, 73, 75, 77). 50

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Média e erro padrão da média do número (n°) e do diâmetro (mm) do total de folículos observados (FO), de folículos considerados aspiráveis pelo ultrassom (FV), de folículos da categoria 1 (C1; ≥ 6 mm de diâmetro), 2 (C2; entre 3,1 e 5,9mm) e 3 (C3; ≤ 3 mm) encontrados nas cabras da raça Anglo Nubiano submetidas a dieta com óleo de soja (C), dieta com Linhaça (L) e dieta com Megalac[®] (M), durante o ultrassom 1 (US1) e ultrassom 2 (US2), realizados imediatamente antes de cada LOPU 20
- Tabela 2.** Média e erro padrão da média de folículos observados (FOBS), folículos aspirados (FASP), oócitos obtidos (TO), taxa média de oócitos recuperados (TXR), corpos lúteos observados (CLO) obtidos durante o procedimento de LOPU nas cabras da raça Anglo-Nubiano submetidas a dieta com óleo de soja (C), dieta com Linhaça (L) e dieta com megalac (M), e entre a primeira (L1) e a segunda (L2) LOPU..... 22
- Tabela 3.** Média e erro padrão da média do Número total de oócitos GI (G1), total de oócitos GII (G2), total de oócitos GIII (G3), total de oócitos viáveis (OV), total de oócitos inviáveis (OI) e a taxa de maturação nuclear dos oócitos (TXM), obtidos durante o procedimento de LOPU (L) nas cabras da raça Anglo-Nubiano submetidas a dieta com óleo de soja (C), dieta com Linhaça (L) e dieta com megalac (M), e entre a primeira (1) e a segunda (2) LOPU 23
- Tabela 4.** Valor de R da correlação Pearson para o número do total de folículos observados (FO), de folículos considerados aspiráveis pelo ultrassom (FV), de folículos da categoria 1 (C1; ≥ 6 mm de diâmetro), 2 (C2; entre 3,1 e 5,9mm) e 3 (C3; ≤ 3 mm), e folículos observados durante as LOPU (FOBS), folículos aspirados (FASP), oócitos obtidos (TO), total de oócitos GI (G1), total de oócitos GII (G2), total de oócitos GIII (G3) e total de oócitos viáveis (OV) encontrados nas cabras da raça Anglo Nubiano submetidas a dieta com óleo de soja (C), dieta com Linhaça (L) e dieta com Megalac[®] (M)..... 24
- Tabela 5.** Média e desvio-padrão das contagens de hemácias (Hem, $\times 10^6/\mu\text{L}$), teor de hemoglobina (hgb, g/dL), Hematócrito (HCT, %), volume corpuscular médio (VCM, fL), hemoglobina globular média (HGM, pg), concentração de hemoglobina globular média (CHGM, g/dL), contagem de leucócitos totais (LT, $\times 10^3/\mu\text{L}$), concentração séricas de Proteínas totais (PROT g/dL), Albumina (ALB g/dL) e Globulinas (GLOB g/dL) e os

teores plasmáticos de Fibrinogênio (FB, mg/dL), Colesterol total (COL mg/dL), Triglicerídeos (TRIG mg/dL), Glicose (GLIC mg/dL), Uréia (UUV mg/dL), Creatinina (CREAT) e a atividade das enzimas Aspartato amino transferase (AST UI/L), Fosfatase alcalina (ALP U/L), Creatinoquinase (CK U/L), Gama glutamil-transferase (GGT U/L), mg/dL), de cabras da raça Anglo-Nubiana submetidas a dieta com óleo de soja (C), a dieta com semente de Linhaça como fonte de gordura (L) e a dieta com Megalac[®] (M) 28

Tabela 6. Média e desvio-padrão das contagens de Hemácias (Hem, $\times 10^6/\mu\text{L}$), teor de Hemoglobina (HGB, g/dL), Hematócrito (HCT, %), Volume Corpuscular Médio (VCM, fL), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM, pg) e concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM, g/dL) das cabras Anglo-Nubiano de acordo com os períodos. Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU) 29

Tabela 7. Média e desvio-padrão das concentrações séricas de Colesterol total (COL mg/dL), Triglicerídeos (TRIG mg/dL), Glicose (GLIC mg/dL), Proteínas totais (PROT g/dL), Albumina (ALB g/dL), Globulinas (GLOB g/dL), Fibrinogênio (FB, mg/dL), Uréia (UUV mg/dL), Creatinina (CREAT) e a atividade das enzimas Aspartato amino transferase (AST UI/L), Fosfatase alcalina (ALP U/L), Creatinoquinase (CK U/L), Gama glutamil-transferase (GGT U/L), mg/dL), de cabras da raça Anglo-Nubiana de acordo com os períodos. Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento

imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU) 30

Tabela 8. Média da contagem de leucócitos totais (LT, $\times 10^3/\mu\text{L}$) e a porcentagem de, leucócitos neutrófilos segmentados (NS) e leucócitos linfócitos (LINF) de acordo com os períodos e grupos experimentais. Período 0 (P0, momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (P1, contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (P2, contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do Início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (P3, contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (P4, contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (P5, contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU). Grupos experimentais, dieta com óleo de soja (C), a dieta com semente de Linhaça como fonte de gordura (L) e a dieta com Megalac[®] (M) 31

Tabela 9. Quantidade de Milho, farelo de Soja, Megalac, Semente de Linhaça e óleo de soja e núcleo mineral para compor 100Kg de concentrado de cada Tratamento. 42

1. INTRODUÇÃO

Em 2009 o mundo possuía um rebanho caprino estimado de 35,5 milhões de cabeças, 26,2% (9,3 milhões de cabeças) eram brasileiras, 220852 cabeças pertenciam ao sudeste brasileiro e destas 26,8% (62.436 cabeças de caprinos) eram paulistas, constituído basicamente por animais de alto mérito genético do tipo leiteiro (IBGE, 2010). Entre 2001 e 2009 o rebanho caprino aumentou em 27,8% no Norte, 9,9% no Sudeste, 79,5% no Sul e 25,7% no Centro Oeste Brasileiro (ANUALPEC, 2010).

A produção de caprinos está intimamente relacionada à reprodução, tanto para a produção de leite quanto para a produção de carne, pois a fêmea necessita gestar e parir, para que ocorram todos os estímulos necessários para a produção de leite. O produto oriundo da gestação se for fêmea irá repor as fêmeas descartadas tornando-se as futuras produtoras de leite, mas se forem machos irão dar origem aos bodes reprodutores ou serão destinados à engorda e abate.

Devido à característica marcante de estacionalidade reprodutiva com uma concentração da expressão do comportamento reprodutivo no outono (FONSECA, 2006), pode haver uma concentração da oferta dos produtos, consequentemente abaixando o valor durante os períodos de alta oferta, justamente quando se aumenta o custo de produção. Neste contexto, as biotécnicas da reprodução ganham destaque por serem fortes aliadas na melhoria da eficiência reprodutiva e produtividade dos rebanhos. As técnicas de controle da reprodução em caprinos permitem uma melhor distribuição da produção de leite e carne durante o ano (TRALDI, 2006).

Em baixas latitudes, os caprinos, em ausência de influências significativas ou de inibições fotoperiódicas, apresentam seu desempenho reprodutivo influenciado pelos fatores nutricionais (WALKDEN-BROWN & RESTALL, 1996). A densidade de energia da dieta parece ser um dos principais fatores envolvidos no crescimento folicular, ovulação e desenvolvimento embrionário (RIGOLON et al., 2009). Gorduras na dieta podem influenciar positivamente a reprodução das fêmeas por melhorar a condição energética e pelo aumento dos precursores das sínteses dos hormônios reprodutivos

como os esteroides (SARTORI & MOLLO, 2007), quando ricas em ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) podem aumentar a qualidade embrionária (HAMMICH et al., 2011)

Em vista que a obtenção de oócitos em caprinos é feita principalmente por videolaparoscopia (LOPU) um procedimento minimamente invasivo e segura que otimiza a reprodução (CORDEIRO et al.,2014), porém de natureza cirúrgica e que fontes de gorduras ricas PUFA podem ser utilizadas na dieta como coadjuvantes no tratamento pós-operatório com o intuito de se reduzir a reação inflamatória (CALDER, 2004), chegou-se a hipótese que a dieta, utilizando a semente de linhaça como fonte de gordura rica em PUFA, aumenta o número de folículos aspirados por videolaparoscopia, ao mesmo tempo que, melhora a recuperação no período pós-operatório.

Diante do exposto o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos das dietas alimentares utilizando fontes de gordura (Megalac[®] ou linhaça) sobre a resposta a aspiração folicular por videolaparoscopia em cabras.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. NUTRIÇÃO E A REPRODUÇÃO

Os caprinos possuem três características marcantes: estacionalidade reprodutiva, prolificidade e período de gestação curto. São poliéstricas estacionais de dias curtos, sendo que o estímulo para a intensificação dos fenômenos reprodutivos é o decréscimo do número de horas de luz por dia. Esse fenômeno tende a diminuir ou a cessar com a aproximação da linha do equador. De forma geral, ocorre uma concentração da expressão do comportamento reprodutivo no outono. A oferta anual de alimentos pode também restringir a atividade reprodutiva (FONSECA, 2006). Em baixas latitudes, os caprinos, em ausência de influências significativas ou de inibições fotoperiódicas, apresentam seu desempenho reprodutivo influenciado pelos fatores nutricionais (WALKDEN-BROWN & RESTALL, 1996). Na época do acasalamento, tem-se utilizado a prática de flushing em fêmeas com êxito. A premissa básica é que uma melhor nutrição, especificamente uma fonte de energia, antes e durante o início da estação de monta, aumenta a taxa de ovulação e, portanto, a taxa de parição de cabritos (PUGH, 2006).

A utilização de gorduras na dieta dos ruminantes pode trazer benefícios, principalmente devido à alta densidade energética, superando assim as limitações em situações de demanda alta de energia. As fontes de gordura protegida comerciais são os sabões de cálcio de ácidos graxos saturados ou monoinsaturados (MULLER et al., 2004). Gorduras na dieta podem influenciar positivamente a reprodução das fêmeas por melhorar a condição energética e pelo aumento dos precursores das sínteses dos hormônios reprodutivos como os esteroides (SARTORI & MOLLO, 2007).

Os ácidos graxos de maior interesse nos estudos em reprodução animal são os de ácidos graxos de cadeia longa incluindo o ácido eicosapentaenoico n-3 (EPA, 20:5n-3), o ácido docosahexaenoico n-3 (DHA, 22:6n-3), ácido araquidônico n-6 (AA, 20:4n-3). Estes ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (PUFA) são sintetizados no corpo através dos ácidos graxos de cadeia curta n-3 α -linolênico (ALA, 18:3n-3) e o n-6 ácido linoleico (LA, C18: 2n-6). Os ALA e LA não podem ser sintetizados por animais e devem ser consumidos na dieta. Há várias fontes alimentares de ALA e LA incluindo

linhaça e um suplemento alimentar (MEGALAC) à base de gordura protegida (GULLIVER et al., 2012).

A densidade de energia da dieta parece ser um dos principais fatores envolvidos no crescimento folicular, ovulação e desenvolvimento embrionário (RIGOLON et al., 2009). Vacas suplementadas com gordura poli-insaturada apresentaram um maior número de folículos médios maiores que vacas suplementadas com rações sem gordura ou com rações suplementadas com gordura saturada (THOMAS et al., 1997). A suplementação alimentar de ovelhas com gordura protegida rica em PUFA aumentou o número de oócitos de melhor qualidade, aumentou a concentração plasmática de PUFA e aumentou a integridade de membrana dos oócitos após o congelamento (ZERON et al., 2002). A suplementação alimentar com ALA, em mulheres, melhorou a morfologia dos embriões e aumentou as concentrações plasmáticas de estrógenos (HAMMICH et al., 2011).

2.2. ESTIMULAÇÃO OVARIANA

Para a colheita de oócitos *in vivo*, apenas folículos antrais são acessíveis (ARMSTRONG et al., 1997). Fisiologicamente, os folículos antrais crescem em padrão de ondas nos caprinos. Há até quatro ondas por ciclo, entretanto, demonstra-se uma grande variação entre os ciclos. Cada onda é precedida por um aumento abrupto das concentrações de FSH. Após o começo da onda um, dois ou três folículos continuam a crescer até atingir o diâmetro igual ou maior que 5 mm. Os demais folículos, médios (4-5mm) e pequenos (2-4mm), entram em atresia. Os maiores folículos podem ovular ou até mesmo entrarem em atresia e, então, uma nova onda folicular emerge com intervalo entre ondas de aproximadamente de 5 dias (3-7 dias; MENCHACA et al., 2010).

Doadoras de oócitos não precisam ser submetidas a um tratamento hormonal e neste caso, trabalha-se sobre uma população folicular aleatória e eventualmente pequena. Entretanto, as doadoras podem ser sincronizadas com progestágenos, e estimuladas com gonadotrofinas, com o objetivo de trabalhar sobre uma maior população folicular (AISEN et al., 2008). Uma forma simples e eficiente de se sincronizar a onda de crescimento folicular é se aproveitando da primeira onda de

crescimento folicular do ciclo estral, a que surge imediatamente após a ovulação (Dia 0 do ciclo estral). Logo após a ovulação existe uma ausência de folículos grandes e uma quantidade homogênea de pequenos folículos começam a crescer em todas as fêmeas. Para se sincronizar a ovulação e o crescimento da primeira onda têm se usado um protocolo curto, baseado em um implante de progestágeno por 5-7 dias associado a PGF_{2α} e eCG na retirada do implante de progesterona. Para garantir a ovulação pode se administrar uma dose de GnRH 36 horas após a retirada do implante. A superestimulação é feita de 72 a 84 horas após a retirada do implante de progesterona administrando-se FSH de 6 a 8 doses decrescentes e duas meias doses de PGF_{2α} são aplicadas juntamente com as duas ultimas doses de FSH (MENCHACA et al., 2010). Protocolos com uma aplicação única de eCG associada a uma aplicação de FSH e LOPU após 36 horas tem demonstrado resultados satisfatórios (CORDEIRO, 2014; AISEN et al., 2008 e TEXEIRA et al., 2012).

Devido a algumas dificuldades inerentes ao uso de progestágeno, HOLTZ et al. (2008) compararam durante a estação de monta, o protocolo de sincronização de estro tradicional com a utilização de dispositivo intravaginal impregnado com progestágeno, análogo da PGF 2α e gonadotrofina coriônica equina (eCG) com o protocolo Ovsynch utilizando duas aplicações de análogo de GnRH intercalada por uma dose de PGF 2α em cabras da raça Boer e não encontrou diferença estatisticamente relevante quanto a eficiência dos protocolos. RIAZ et al, (2012) durante a estação de monta compararam o protocolo Ovsynch com duas doses de PGF_{2α} com intervalo de 10 dias na indução de cio em cabras da raça Beetal e Dwarf e também não encontraram diferença entre índices os reprodutivos atingidos nos dois protocolos.

2.3. ASPIRAÇÃO FOLICULAR POR VIDEOLAPAROSCOPIA

A produção *in vitro* de embriões tem o potencial de gerar maior quantidade de filhos de fêmeas excelentes que a ovulação múltipla e transferência de embriões. A recuperação de oócitos por laparoscopia, frente a lavagem uterina para recuperação de embriões, permite repetir o procedimento na mesma doadora maior quantidade de

vezes, permite também produzir progênie a partir de animais de alto valor em circunstâncias que a transferência de embriões não permite, como em animais pré púberes, senis e gestantes. A produção *in vitro* de embriões pode fazer o sistema de produção de animais transgênicos eficiente pelo uso de zigotos oriundos de oócitos recuperados por laparoscopia. Portanto a produção *in vitro* de embriões está bem desenvolvida para substituir a transferência de embriões (AISEN et al., 2008).

Em cabras aspirações foliculares por laparoscopia repetidas em intervalos tão curtos quanto uma semana não afetam a condição corporal dos animais, a capacidade de maturação dos oócitos, causa aderências de significado irrelevante, não atrapalha o desenvolvimento da gestação (CORDEIRO, 2014).

2.4. PARÂMETROS SANGUÍNEOS

A intensificação dos sistemas de exploração para alcançar a rentabilidade almejada aumentou também os riscos de ocorrência de transtornos metabólicos na cabra, em função de desequilíbrios entre o aporte de nutrientes ao organismo, a capacidade de metabolização desses componentes e o nível de produção alcançado (MUNDIM et al., 2007), o que torna vulnerável quando técnicas e práticas de manejo não são conduzidas de maneiras adequadas, sendo necessário o acompanhamento da saúde animal.

Os indicadores metabólicos têm sido empregados em estudos metabólico-nutricionais, pois permitem estabelecer por meio de análises sanguíneas de grupos representativos de animais de um rebanho, seu grau de adequação nas principais vias metabólicas relacionadas com energia, proteínas e minerais, bem como a funcionalidade de órgãos vitais (GONZALEZ & SCHEFFER, 2003). O uso rotineiro dos indicadores metabólicos neste sentido é uma realidade, pois permite melhor compreensão dos mecanismos metabólicos mediante o uso de marcadores bioquímicos em diferentes espécies, condições sexuais e fases de vida dos animais (GONZALEZ et al., 2000).

As avaliações hematológicas nos ruminantes podem ser empregadas para analisar doenças em um animal, para avaliar grupos de animais dentro de um rebanho ou ainda para detectar doenças ocultas e direcionar as condutas clínicas (WEISS & PERMAN, 1992). A resposta leucocitária em ruminantes frequentemente difere das observadas em outras espécies (COLE et al., 1997; TAYLOR, 2000), o que pode ser atribuído ao fato desses animais possuírem um compartimento de reserva leucocitária limitado na medula óssea, fazendo com que os neutrófilos imaturos apareçam rapidamente, nos estados inflamatórios agudos (KANTEK & NAVARRO, 2005; THRALL, 2007). O leucograma pode ser influenciado por diversos fatores, dentre estes a nutrição (OHTSUKA et al., 2005).

Em razão da variabilidade da resposta leucocitária às doenças nos ruminantes, a avaliação dos teores de proteínas como a albumina, a globulina e o fibrinogênio, juntamente ao leucograma, oferece melhor parâmetro de interpretação do que a contagem de leucócitos isoladamente (ECKERSALL & CONNER, 1988; SUTHERLAND & WHITNEY, 1995).

A resposta de fase aguda da inflamação é uma resposta do organismo frente a doenças infecciosas, procedimentos cirúrgicos e outras enfermidades inflamatórias (TAKIGUCHI et al., 1990). Na resposta inflamatória ocorre estímulo à produção hepática de glicoproteínas denominadas proteínas de fase aguda (PFAs) (TAKIGUCHI et al., 1990; GODSON et al., 1996). As proteínas positivas de fase aguda como haptoglobina, proteína C-reativa, ceruloplasmina, amiloide sérica A, fibrinogênio e α 1-glicoproteína ácida, tem a concentração sérica aumentada em resposta a inflamação. As proteínas de fase aguda negativas têm suas concentrações séricas diminuídas em resposta a inflamação sendo exemplo dessas a albumina e a transferrina (MURATA et al., 2004).

Em humanos, é bem estabelecido que o trauma cirúrgico aumenta a síntese hepática das proteínas de fase aguda e, conseqüentemente, sua concentração sérica, podendo ser empregada no monitoramento de pacientes com doenças infecciosas primárias ou secundárias no pós-operatório (KENT, 1992). Em vacas e búfalas submetidas a lapatotomia há alterações no perfil de proteínas séricas detectáveis em

uma hora após o procedimento (fibrinogênio,)e persistente até 15 dias após o procedimento (haptoglobina) (SAQUETTI, 2010).

Em animais de laboratório e humanos sabe-se que o ômega-3 tem efeito anti-inflamatório (CALDER, 1998). A suplementação com ômega-3, em humanos, pode diminuir a concentração de várias proteínas de fase aguda (ERNST et al., 1991), bem como diminuir a concentração sérica da proteína C-reativa (MUHAMMAD et al., 2011). Acredita-se que a proteína C-reativa é a principal proteína de fase aguda em cães (CONNER et al., 1988 e KENT, 1992) e uma das mais importantes na espécie equina (NUNOKAWA et al., 1993). A nutrição enteral ou parenteral contendo ômega-3 na sua composição aparentemente preservam melhor a função imune, preservando o organismo de alguns efeitos da resposta inflamatória, sendo então indicada para o tratamento pós-operatório (CALDER, 2004).

A avaliação da concentração de proteínas de fase aguda é um importante meio de se avaliar a saúde de um animal, no entanto pouco se sabe da interação entre os PUFA e as proteínas de fase aguda e suas alterações em procedimentos cirúrgicos em caprinos.

3. HIPÓTESE

A dieta, utilizando a semente de linhaça como fonte de gordura rica em PUFA, aumenta o número de folículos aspirados por videolaparoscopia, ao mesmo tempo que, melhora a recuperação no período pós-operatório.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos das dietas alimentares utilizando fontes de gordura (Megalac[®] ou linhaça) sobre a aspiração folicular por videolaparoscopia em cabras Anglo-nubiano.

4.2. Objetivos específicos

Estimar a eficiência da aspiração folicular por videolaparoscopia em cabras suplementadas com fontes de gordura rica em PUFA, aos 42 dias e 77 dias de dieta.

Inferir sobre a qualidade oocitária por características morfológicas e pela capacidade de maturação *in vitro* nos diferentes grupos experimentais.

Examinar a condição folicular presente nos momentos das LOPU por ultrassonografia sob efeito das dietas.

Determinar se os tratamentos interferem no metabolismo e na recuperação pós cirúrgica dos animais por meio de análise dos parâmetros hematológicos e da bioquímica sérica.

Correlacionar as variáveis videolaparoscópicas e ultrassonográficas a fim de se identificar a confiabilidade da ultrassonografia como ferramenta de avaliação folicular.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Local do experimento

O experimento foi conduzido na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, localizada na cidade de Jaboticabal (21°15'22" de latitude S, 48°18'58" de longitude W e 595 m de altitude), durante os meses de setembro a dezembro de 2013.

Os animais foram alojados em instalações do Setor de Caprinocultura, os procedimentos cirúrgicos e as análises sanguíneas realizadas no Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, e as avaliações e cultivo *in vitro* dos oócitos foram feitos no Setor de Reprodução Animal do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal desta Instituição.

5.2. Animais

O presente estudo foi realizado sob as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) Protocolo 007244/13.

Foram utilizadas 18 cabras da raça Anglo-Nubiano, não lactantes, pluríparas, clinicamente saudáveis e aptas à reprodução, com idade entre 2 e 6 anos. Os animais foram mantidos em baias individuais e arraçoados com dietas isoenergéticas e isoproteíca. Estas foram elaboradas de acordo com as exigências nutricionais de cabras adultas não lactantes (NRC, 2006), ajustadas na relação volumoso:concentrado de 60:40, com base na matéria seca (MS). A ração foi fornecida em cochos individuais às 07:00h e 15:00h de forma a permitir sobras (10% na MS), com disponibilidade irrestrita de água para os animais (ANEXO 1).

Durante o período experimental, os animais foram pesados semanalmente, sempre antes do fornecimento da alimentação matinal. Realizou-se, ainda, avaliação do escore de condição corporal, segundo MORAND-FEHR & HERVIEUR (1999), escala de 1 a 5 com intervalo de 0,25.

Os animais foram submetidos a um período de adaptação as instalações, manejo e dietas, com duração de 15 dias, de forma a estabelecer o consumo na proporção de 60% de volumoso e 40% de concentrado. Neste período, as cabras receberam tratamento contra endo e ectoparasitas. Em seguida, foram aleatoriamente alocadas em grupos de acordo com as dietas experimentais.

5.3. Grupos e Tratamentos

Os animais foram divididos e alojados aleatoriamente em três grupos experimentais com seis animais cada, sendo:

Grupo C, com dieta alimentar utilizando óleo de soja como fonte de gordura;

Grupo M, com dieta alimentar utilizando uma fonte de gordura protegida, sais de cálcio de ácidos graxos de cadeia longa (MEGALAC[®]);

Grupo L, com dieta alimentar utilizando semente de linhaça como fonte de gordura.

Todas as dietas tiveram 4% de extrato etéreo oriundo da fonte de gordura com base na matéria seca (MS), mantendo as características isoenergéticas e isoproteicas entre elas (Anexo 2).

Para o controle do ciclo estral, todos os animais foram submetidos ao protocolo Ovsynch. O tratamento hormonal teve início em um dia aleatório do ciclo estral, que correspondeu ao 30º dia do manejo experimental de alimentação, quando foi administrado, por via intramuscular, 4 µg de um análogo de GnRH¹ (acetato de busserelina). No 37º dia de manejo, as fêmeas receberam i.m. 75 µg de um análogo de PGF2α² (cloprostenol sódico) e no 39º dia de manejo, as cabras receberam uma segunda dose de 4µg de GnRH. Após 36 horas da segunda dose de GnRH, os animais foram submetidos ao protocolo de superestimulação ovariana, quando receberam uma injeção de 80mg de FSHp³ juntamente com outra de 300 UI de eCG⁴. As fêmeas foram

¹ Conceptal®, MSD Saúde Animal, Brasil.

² Sincrocio® Orofino S.A, Brasil.

³ Folltropin®, MSD Saúde Animal, Canadá.

⁴ Novormon®, MSD Saúde Animal, Argentina.

submetidas ao tratamento de superestimulação sempre 36 horas antes dos procedimentos de aspiração folicular por videolaparoscopia (LOPU), conforme Figura 3.

O protocolo Ovsynch foi repetido, tendo início no 58º dia de manejo alimentar.

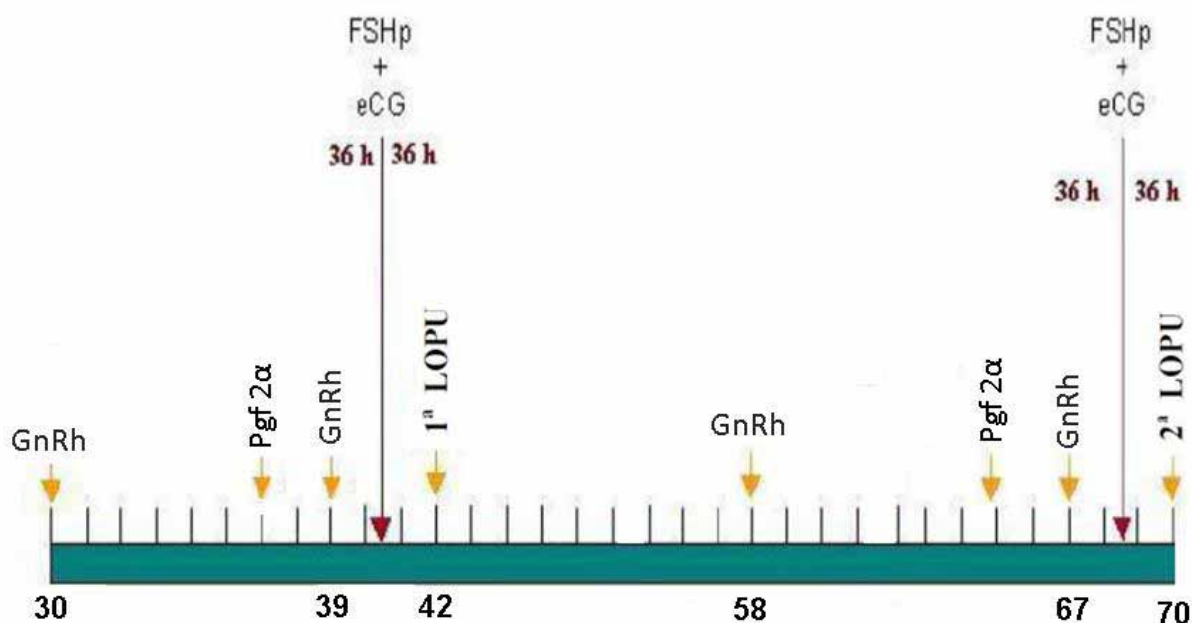


Figura 1. Esquema dos tratamentos hormonais a que as fêmeas caprinas dos grupos C, M e L foram submetidas.

5.4. Ultrassonografia ovariana

Imediatamente antes a cada cirurgia, realizou-se a avaliação ultrassonográfica (Modo-B) dos ovários, sendo nominado como ultrassom 1 (US1) e ultrassom 2 (US2) o exames realizados antes da primeira LOPU e da segunda LOPU respectivamente. Por via transretal, utilizando-se o aparelho MyLab VET 30 (Esaote, Itália) e transdutor linear multifrequencial de 7 a 12 MHz. As fêmeas foram mantidas em posição quadrupedal e a manipulação externa do transdutor foi feita mediante a fixação em uma guia de comprimento 40 cm. Após remoção das fezes do reto e deposição do gel sobre o transdutor, este foi introduzido no reto com a superfície de contato posicionada perpendicularmente à parede abdominal. Quando a bexiga urinária foi ultrapassada e

os cornos uterinos localizados, o transdutor foi lentamente rotacionado para esquerda e direita com finalidade de identificar os ovários e suas estruturas. Avaliou-se quantitativamente a presença de estruturas foliculares, assim como o diâmetro destas estruturas e dos ovários. Os folículos foram distribuídos em categorias, conforme seu diâmetro, calculado pela equação $[D=(A+B)/2]$; sendo que A representa a altura máxima e B o diâmetro transversal máximo.

Os folículos foram separados em três categorias, folículos da categoria 1 (≥ 6 mm de diâmetro) em geral encontram-se em estágio final de crescimento, onde há possibilidade de apresentar oócitos que tenham iniciado o processo de maturação (MENCHACA *et al.*, 2010); folículos de categoria 2 (3,1 a 5,9 mm), encontramos as estruturas desejáveis para a aspiração folicular devido a maior facilidade para realização do procedimento e potencial qualidade dos oócitos obtidos (CROZET *et al.*, 1995), e na categoria 3 (≤ 3 mm) as estruturas mais difíceis de serem aspiradas por (CROZET *et al.*, 1995). Após o exame ultrassonográfico, os animais foram submetidos ao procedimento de videolaparoscopia para aspiração folicular. Para correlacionar os resultados obtidos na ultrassonografia com os da LOPU criou-se os a categoria de folículos considerados aspiráveis pelo ultrassom (FV).

5.5. Aspiração folicular

Imediatamente antes de cada LOPU as fêmeas foram submetidas a jejum sólido e hídrico de 36 horas, anestesiadas com associação de 0,05 mg/Kg/IM de cloridrato de xilazina (Rompum® - Bayer - Brasil) e após 10 minutos 2 mg/Kg/IV de cloridrato de quetamina (Vetaset® - Fort Dodge - Brasil). Os animais foram intubados e mantidos em plano superficial com isoflurano durante o procedimento (Forane® - Abbott - Brasil), na concentração média de 0.89 ± 0.08 V%, mensurada com vaporizador calibrado para esse fármaco (HB® Hospitalar – Brasil).

Após a anestesia foi preparado o campo cirúrgico com tricotomia da região abdominal, antissepsia cirúrgica e colocação dos panos de campo. As fêmeas foram posicionadas em uma inclinação de 45° de elevação dos membros posteriores (posição *Trendelenburg*) para melhor visualização dos órgãos reprodutivos, com o auxílio de um bisturi, fez-se incisão cutânea, 10 a 15 cm cranial ao úbere e 5 cm à direita da linha

média, para facilitar a introdução de trocáter com válvulas para insuflação (5 mm), estabelecendo-se o pneumoperitônio com CO₂, utilizando pressão intrabdominal (PIA) de 8 mmHg, e velocidade de insuflação de 5 L/min. Por este trocater foi introduzido o laparoscópio conectado a uma câmera e a um cabo de fibra ótica, fornecendo luz para o interior da cavidade, sendo a imagem visualizada no monitor; seguindo-se a introdução vídeo-assistida do segundo trocater de 10 mm em posição antimérica ao primeiro e terceiro de 5 mm na linha média 20 cm cranial ao úbere, endoscópio foi transferido para o terceiro trocáter obtendo-se campo visual.

Sequencialmente introduziram-se pelo primeiro e segundo trocáteres as pinças atraumáticas (Babcock) que permitiram a manipulação do útero, tubas e bursas ováricas e individualização dos ovários, que foram fixados, com este instrumento, pelo mesovário, evitando sempre lesar qualquer estrutura. Em seguida, uma das pinças foi retirada e foi introduzido um cateter 18G adaptado para aspiração acoplado a um circuito de aspiração junto a uma bomba de precisão de vácuo contínuo (ajustada a pressão máxima de 65 mmHg), e o fluido folicular foi recuperado em um tubo de colheita de 50mL.

Antes de iniciar a aspiração, o tubo e o circuito foram lavadas com meio de coleta (PBS completo com 10UI/mL de heparina) aquecido a 36°C e aproximadamente 2 mL desse meio foram depositadas no fundo do tubo para receber os oócitos. Previamente à aspiração folicular os ovários foram examinados e o número de folículos, de corpos lúteos e qualquer alteração foram anotadas e contabilizadas. Em seguida, a agulha de aspiração foi introduzida na cavidade próxima ao local onde se encontra o ovário. A punção foi realizada movimentando-se os ovários em diferentes posições com a pinça de manipulação atraumática. A agulha foi inicialmente colocada em posição paralela à superfície ovariana, o que permite as perfurações dos folículos nas suas extremidades e na impossibilidade, a punção foi feita perpendicularmente. A taxa de recuperação oocitária foi obtida através da relação de número de oócitos colhidos/número de folículos puncionados.

Após a recuperação, o ovário foi lavado com solução fisiológica para diminuir possíveis aderências. O mesmo procedimento foi realizado nos dois ovários. Ao final

da videolaparoscopia, o CO₂ foi retirado da cavidade abdominal e as incisões cirúrgicas da musculatura e da pele foram suturadas com fios de Nylon 0.

Ao redor das feridas cirúrgicas foi utilizado spray repelente/cicatrizante. Na intervenção subsequente, as incisões foram feitas lateralmente a um centímetro, cranial ou caudal à incisão anterior. Após serem retiradas da maca cirúrgica as fêmeas foram colocadas em local limpo e tranquilo e observadas até o seu completo restabelecimento. Os animais receberam uma aplicação de antibiótico (Penfort PPU[®]) intramuscular logo após o término do procedimento cirúrgico e Tramadol intramuscular 12 horas após o término do procedimento cirúrgico.

5.6. Avaliação oocitária e maturação *in vitro*

Em laboratório, o líquido aspirado foi cuidadosamente depositado em placas de Petri e levado à observação em estereomicroscópio em aumento máximo de 40X. Uma vez localizados, os oócitos foram transferidos para outra placa contendo 300 a 500 µL de meio de lavagem e então classificados de acordo com suas características morfológicas, seguindo a metodologia de GONÇALVES et al. (2008), em Grau I (*ooplasma* homogêneo, *cumulus* compacto, contendo mais de três camadas de células), Grau II (*ooplasma* homogêneo, *cumulus* compacto parcialmente presente em volta do oócito ou rodeando completamente o oócito, com menos de três camadas celulares), Grau III (*ooplasma* homogêneo, *cumulus* presente, com apenas uma camada de célula ou ausência de camada de célula do *cumulus* - *desnudos*) e Grau IV (*ooplasma* com vacúolos e ou células do *cumulus* em regressão) considerados oócitos inviáveis (OI).

Os oócitos de Grau I, II e III foram considerados viáveis (OV) e passados em três gotas de 100 a 200 µL de meio de lavagem (Anexo 3) e levados para cultivo em placas contendo gotas de 100 µL de meio de maturação (Anexo 4) sob óleo mineral, onde permaneceram durante 27 horas, em estufa a 38,5°C, com 5,0% de CO₂ em ar e atmosfera úmida.

Após o período de maturação, os oócitos foram transferidos para placas com gotas de 70µL de PBS e agitados com o uso de uma micropipeta automática até que os

oócitos ficassem desnudos, e então, colocados em uma placa onde foram depositados os oócitos fixados por 5 min com formamida a 4% em PBS, permeabilizados com Triton a 1% em PBS por 10 min. Posteriormente, foram corados com glicerol incluído com corante Hoechst 33342, fixados entre lâmina e lamínula, vedados com esmalte, e levados ao microscópio de epifluorescência, após o tempo mínimo de 24 horas, para observação do estágio de maturação nuclear.

Os oócitos examinados foram classificados da seguinte forma (WANG *et al.*,1998): (1) oócitos maturados, onde é possível observar a formação de um eixo em metáfase com extrusão do primeiro corpúsculo polar; e (2) oócitos imaturos, nos quais a placa metafásica não foi observada.

5.7. Avaliações Sanguíneas

Com o intuito de se acompanhar a saúde dos animais e as alterações metabólicas (hematológicas e bioquímica sérica) ocorridas devido à mudança de dieta e à submissão ao procedimento de LOPU foram coletadas amostra de sangue das cabras em 18 momentos.

As colheitas de sangue foram realizadas em diversos momentos, porém sempre antes do fornecimento da dieta, conforme a Figura 4, logo no início da adaptação, ao final da adaptação de 15 dias e início do período experimental, aos 7 dias de início do período experimental, aos 14 dias de início do período experimental, aos 21 dias de início do período experimental, aos 30 dias de início do período experimental e imediatamente antes do início do protocolo Ovsynch, imediatamente antes de cada LOPU e 24 horas, 72 horas, 5 dias e 7 dias subsequentes a cada LOPU, entre a primeira e a segunda LOPU foram coletadas mais duas amostras de sangue, aos 16 e 23 dias após a primeira LOPU.

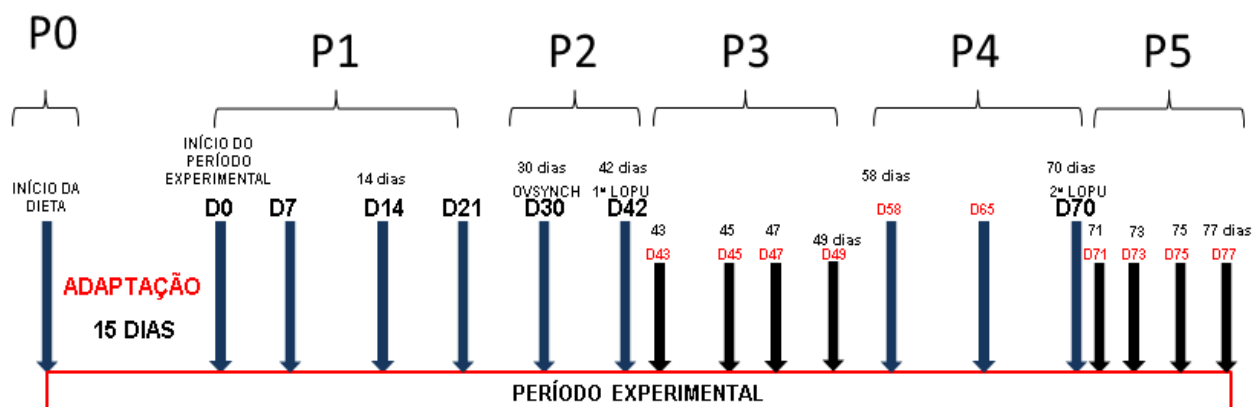


Figura 2. Esquema de coleta de sangue, as setas indicam o momento da coleta de sangue.

Para facilitar a compreensão dos dados os momentos foram agrupados em 6 períodos, sendo: Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do Início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU).

As amostras de sangue foram obtidas por venopunção jugular, após antissepsia local com álcool iodado, utilizando-se tubos de plástico siliconizados⁵ a vácuo, anticoagulante fluoretado, para a avaliação da glicemia, em tubos de plástico siliconizados sem anticoagulante⁵ para as análises bioquímicas do soro sanguíneo e para as análises hormonais e em tubos de plásticos com edta⁵ para as análises hematológicas. Todas as amostras foram processadas de acordo com THRALL (2007), obtendo-se alíquotas de 2 mL que foram armazenadas em tubos tipo Eppendorf, previamente identificados, à temperatura de -18°C até o momento das análises.

Foram avaliadas as concentrações séricas proteínas totais (método do biureto), albumina (método do verde de bromocresol), uréia (método de urease), creatinina (método de Basques-Lustosa), aspartato aminotransferase (método cinético-UV),

⁵ BD Vacutainer, Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda., Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil

fosfatase alcalina (método de Roy modificado), gamaglutamiltransferase (método de Szaz modificado) colesterol (método Enzimático-Trinder), triglicérides (método colorimétrico, reação de Trinder) e glicose (método enzimático de PAP).

Os testes foram realizados utilizando-se conjuntos de reagentes de uso comercial⁶. As leituras dos parâmetros bioquímicos foram realizadas em espectrofotômetro⁷ automático, com comprimentos de onda específicos para cada constituinte.

De cada amostra de sangue venoso coletada com o anticoagulante foram realizadas as contagens de hemácias e de leucócitos, os teores de hemoglobina e os valores para o Hematócrito (HCT), o volume globular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em aparelho automático, para a mensuração da concentração plasmática de fibrinogênio foram seguidas as recomendações de TRALL (2007).

5.8. ANÁLISE DOS DADOS

Após a confirmação da homocedasticidade e normalidade dos dados foi feita a análise de variância (ANOVA) em parcelas subdivididas no tempo (split-plot), as comparações das médias dos pares foi feita usando o teste de Tukey, com valor de $p < 0,05$ e as correlações dos dados por meio do teste de correlação de Pearson sendo consideradas significantes com $p \leq 0,05$. Utilizou-se o software R (R Core Team, 2014).

⁶ Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

⁷ Labmax pleno, Labtest, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Desempenho dos animais

Não houve diferença do valor médio de ganho de peso diário (GPD) entre os grupos do início do período experimental ao 70º dia de experimento, sendo de 50 ± 50 g para C, 50 ± 50 g para L e 80 ± 80 g para M, tampouco das medidas de escore corporal dos animais entre os tratamentos sendo estes $2,66 \pm 0,63$; $2,44 \pm 0,62$ e $2,94 \pm 0,60$ para C, L e M respectivamente.

6.2. Ultrassonografia

Os resultados obtidos durante o ultrassom realizado imediatamente antes de cada LOPU estão resumidos em efeitos principais (Tabela 1), pois não houve interação entre os fatores.

Não houve diferença entre tratamentos para o número e diâmetro de folículos observados (FO), folículos considerados aspiráveis pelo ultrassom (FV) e folículos de categorias C1, C2 e C3.

Entre o primeiro (US1) e o segundo ultrassom (US2) não houve diferença entre o número de FO, C2 e C3, o mesmo ocorreu com o diâmetro de C1. O número de FV e C1 foi maior no US1, assim como o diâmetro de FO, FV, C2 e C3.

Tabela 1 Média e erro padrão da média do número (n^o) e do diâmetro (mm) do total de folículos observados (FO), de folículos considerados aspiráveis pelo ultrassom (FV), de folículos da categoria 1 (C1; ≥ 6 mm de diâmetro), 2 (C2; entre 3,1 e 5,9mm) e 3 (C3; ≤3 mm) encontrados nas cabras da raça Anglo Nubiano submetidas a dieta com óleo de soja (C), dieta com Linhaça (L) e dieta com Megalac[®] (M), durante o ultrassom 1 (US1) e ultrassom 2 (US2), realizados imediatamente antes de cada LOPU

		C	L	M	US1	US2
FO	n ^o	23,5 ± 3,06	17,5 ± 1,42	20,0 ± 2,48	21,8 ± 1,64	18,8 ± 2,23
	mm	4,06 ± 0,08	3,88 ± 0,09	4,04 ± 0,09	4,29 ± 0,06 A	3,69 ± 0,07 B
FV	n ^o	17,2 ± 2,61	12,1 ± 1,32	15,1 ± 1,85	17,3 ± 1,39 A	12,3 ± 1,74 B
	mm	4,91 ± 0,08	4,96 ± 0,16	4,75 ± 0,17	5,05 ± 0,06 A	4,71 ± 0,13 B
C1	n ^o	4,33 ± 0,39	3,25 ± 0,15	4,58 ± 0,40	5,11 ± 0,27 A	3,00 ± 0,28 B
	mm	5,92 ± 0,14	5,81 ± 0,15	5,91 ± 0,15	5,90 ± 0,11	5,87 ± 0,13
C2	n ^o	12,9 ± 2,68	8,93 ± 1,20	10,5 ± 2,21	12,2 ± 1,14	9,28 ± 1,46
	mm	4,12 ± 0,04	4,11 ± 0,04	4,02 ± 0,05	4,23 ± 0,03 A	3,91 ± 0,04 B
C3	n ^o	6,17 ± 1,00	5,50 ± 0,88	5,00 ± 0,95	4,67 ± 0,69	6,44 ± 0,78
	mm	2,50 ± 0,05	2,37 ± 0,05	2,47 ± 0,06	2,61 ± 0,05 A	2,34 ± 0,04 B

Letras diferentes na mesma linha denotam diferença significativa para o teste de Tukey (p<0,05).

6.3. Aspiração Folicular

Os resultados das variáveis observadas durante cada LOPU estão resumidas pelos efeitos principais (Tabela 2), pois não houve interação entre tratamentos e momentos.

Entre os grupos experimentais não houve diferença entre TXR e CLO, porém FOBS, FASP e TO foram maiores em C e menor em L.

Entre a primeira e a segunda LOPU não foi notada diferença em TO e CLO. Os valores de FOBS e FASP foram maiores na primeira LOPU, mas TXR foi maior na segunda LOPU. PIERSON et al. (2004) afirma que a técnica é viável durante o ano todo, porém por se tratar de animais sazonais, a época do ano (Setembro a Dezembro) em que foi realizada o experimento pode ter interferido nesses resultados, todo cuidado para se evitar essa interferência foi tomada, os animais foram mantidos em local com pouca influência desse fator e em condições de escore corporal adequado em que as necessidades de manutenção foram atendidas, provadas pelo gpd dos animais.

Foi notório o aumento da TXR, porém se mantendo dentro dos parâmetros relatados na literatura MORTOM et al. (2005) e SOUZA-FABJAM et al. (2014), contudo isso pode ter contribuído para o fato do número de oócitos obtidos não ter diminuído.

O total de FOBS e FASP foi semelhante ao de GIBBONS et al.(2007), COX et al.(2007), BALDASSARRE et al. (2007), ABDULLAH et al.(2008) e CORDEIRO et al. (2014), e superior a PIERSON et al.(2004). Fatores como raça e época do ano podem interferir nos resultados da LOPU, nenhum desses autores utilizou a raça Anglo-nubiano e poucos mencionam a época do ano em que foi realizado o experimento, porém o que mais diferencia este trabalho dos demais além do fato de se tratar de um trabalho envolvendo diferentes fontes de gordura alimentar é o tratamento hormonal que não utilizou progestágenos, segundo BERLINGUER et al.(2007), o uso desses progestágenos pode prejudicar a taxa de recuperação e a competência oocitária sem, no entanto, afetar a dinâmica folicular, isso poderia ajudar a explicar a boa taxa de maturação obtida neste estudo, porém é necessário um experimento comparativo nas mesmas condições deste experimento utilizando os dois tipos de protocolos hormonais.

Os maiores valores para FOBS, FASP, TO, G3 e OV foram encontrados em no grupo C, a energia não variou entre as dietas e estas afetaram de forma semelhante o metabolismo dos animais, o que pode ter mudado foi a composição de ácidos graxos da dieta bem como a forma como esses ácidos graxos foram biohidrogenados no rúmen (BERCHIELLI et al., 2011), porém estes dados não estão contemplados neste trabalho. ROSSI (2013) trabalhando com vacas das raças Nelore e Holandesa, suplementando com torta de linhaça e Megalac[®] notou aumento do número de folículos recrutados, porém sem aumentar o número de oócitos de boa qualidade.

Tabela 2. Média e erro padrão da média de folículos observados (FOBS), folículos aspirados (FASP), oócitos obtidos (TO), taxa média de oócitos recuperados (TXR), corpos lúteos observados (CLO) obtidos durante o procedimento de LOPU nas cabras da raça Anglo-Nubiano submetidas a dieta com óleo de soja (C), dieta com Linhaça (L) e dieta com megalac (M), e entre a primeira (L1) e a segunda (L2) LOPU

	FOBS	FASP	TO	TXR	CLO
C	28,4 ± 4,17 A	26,8 ± 4,12 A	10,9 ± 1,37 A	43,9 ± 4,15	1,42 ± 0,40
L	15,5 ± 2,08 B	14,3 ± 1,89 B	5,92 ± 1,08 B	44,9 ± 7,91	2,50 ± 0,48
M	18,9 ± 1,83 AB	16,4 ± 1,59 AB	6,91 ± 0,83 B	43,2 ± 5,02	1,67 ± 0,43
L1	24,7 ± 3,01 A	22,4 ± 2,94 A	7,56 ± 0,93	35,8 ± 3,05 B	1,72 ± 0,40
L2	17,2 ± 1,90 B	16,0 ± 1,91 B	8,35 ± 1,15	52,7 ± 5,35 A	2,00 ± 0,33

Letras diferentes na mesma linha denotam diferença significativa para o teste de Tukey (p<0,05).

6.4. Avaliação oocitária e maturação *in vitro*

Os resultados obtidos da avaliação morfológica dos oócitos e a taxa de maturação nuclear, estão resumidos pelos efeitos principais (Tabela 3), pois não houve interação entre os fatores, número total de oócitos GI, número total de oócitos GII (GII), número total de oócitos GIII (GIII), número total de oócitos inviáveis (OI) e a taxa de maturação nuclear (TXM).

Entre os grupos experimentais não houve diferença em G1, G2, OI e TXM, G3 e OV foi maior em C e menor em L. Entre as LOPUs houve diferença apenas em G2, sendo o maior valor obtido na primeira LOPU. A técnica usada no presente trabalho está de acordo com RODRIGUEZ et al.(2004), com TEIXEIRA et al. (2012), PADILHA et al. (2014) e CORDEIRO et al (2014), e os resultados corroboram com SOUZA-FABJAM et al.(2014).

A qualidade oocitária é o principal fator que leva os embriões produzidos *in vitro* a chegarem ao estágio de blastocisto (PARAMIO et al., 2010). O aumento do diâmetro folicular melhora a qualidade oocitária e conseqüentemente o desenvolvimento embrionário, oócitos oriundos de folículos em crescimento são mais competentes que oócitos obtidos de folículos dominantes (MERMILLOD et a., 2008).

Tabela 3. Média e erro padrão da média do Número total de oócitos G1 (G1), total de oócitos GII (G2), total de oócitos GIII (G3), total de oócitos viáveis (OV), total de oócitos inviáveis (OI) e a taxa de maturação nuclear dos oócitos (TXM), obtidos durante o procedimento de LOPU (L) nas cabras da raça Anglo-Nubiano submetidas a dieta com óleo de soja (C), dieta com Linhaça (L) e dieta com megalac (M), e entre a primeira (1) e a segunda (2) LOPU

	G1 (n=8)	G2 (n=49)	G3 (n=190)	OV (n=247)	OI (n=31)	TXM
C	0,25 ± 0,18 (n= 3)	1,92 ± 0,79 (n= 23)	7,75 ± 1,28 A (n= 62)	9,92 ± 1,28 A (n=93)	1,08 ± 0,43 (n=13)	89,2 ± 4,24
L	0,17 ± 0,11 (n= 2)	1,33 ± 0,62 (n= 16)	3,83 ± 0,91 B (n= 23)	5,08 ± 1,07 B (n=61)	0,83 ± 0,27 (n=10)	85,4 ± 4,66
M	0,27 ± 0,13 (n= 3)	0,91 ± 0,30 (n= 10)	4,91 ± 0,84 AB (n=31)	5,58 ± 0,90 AB (n=67)	0,67 ± 0,33 (n=8)	86,7 ± 4,45
1	0,33 ± 0,14 (n=6)	2,11 ± 0,62 A (n=38)	4,56 ± 0,73 (n=82)	7,00 ± 0,95 (n=126)	0,50 ± 0,22 (n=9)	86,9 ± 3,98
2	0,12 ± 0,08 (n=2)	0,65 ± 0,22 B (n=11)	6,35 ± 0,99 (n=108)	6,72 ± 1,09 (n=121)	1,22 ± 0,32 (n=22)	87,3 ± 3,19

Letras diferentes na mesma linha denotam diferença significativa para o teste de Tukey ($p < 0,05$).

VIANA et al. (2004) repetiram as LOPU 2 vezes por semana sem afetar a qualidade oocitária, PADILHA et al. (2014), utilizando a mesma técnica do presente trabalho, aspiraram 6 ovelhas por 9 semanas consecutivas e não notaram diferença entre as seções tanto para quantidade quanto para a qualidade oocitária. CORDEIRO et al. (2014) aspirou cabras adultas e pré púberes 6 semanas consecutivas e notou declínio no número e na qualidade dos oócitos obtidos.

6.5. Correlações entre os achados da Ultrassonografia e da Videolaparoscopia para aspiração folicular.

Os resultados do teste de correlação de Pearson entre as variáveis TFO, FV C1, C2, C3 e FOBS, FASP, TO, G1, G2, G3 e OV estão resumidos na Tabela 4.

Houve alta correlação entre FO e FOBS, FASP, TO G3 e OV; FV e FOBS, FASP, TO, G3 e OV; C1 com G1 e C2 com FOBS, FASP e TO. Houve correlação

negativa de C3 com G1 e G2. Segundo CROZET et al. (1995) e GIBBONS et al. (2007) a taxa de recuperação de oócitos de boa qualidade é maior em folículos médios (3,1-5 mm) e grandes (>5mm) e isso corrobora com a alta correlação de C1 com G1. O presente estudo mostrou uma queda no número e no diâmetro dos folículos observados e no número de folículos aspirados, mas sem afetar OV. A diminuição do diâmetro dos folículos aspirados pode estar correlacionada com a diminuição do rendimento da técnica em experimentos mais longos. A taxa de maturação também não foi afetada. Outros fatores inerentes a técnica como o calibre e tamanho da agulha, a pressão de aspiração e o comprimento do sistema de aspiração poderiam afetar de forma negativa a qualidade oocitária, a metodologia adotada foi muito similar a de PIERSON et al.(2004) , TEIXEIRA et al.(2012) e PADILHA et al.(2014) no entanto esses autores conseguiram maiores TXR e maior quantidade de G1 e G2.

A melhor forma de se averiguar a viabilidade desses oócitos por meio da taxa de prenhez dos embriões oriundos da produção in vitro, porém esses dados não estão contemplados neste trabalho.

Tabela 4. Valor de R da correlação Pearson para o número do total de folículos observados (FO), de folículos considerados aspiráveis pelo ultrassom (FV), de folículos da categoria 1 (C1; ≥ 6 mm de diâmetro), 2 (C2; entre 3,1 e 5,9mm) e 3 (C3; ≤ 3 mm), e folículos observados durante as LOPU (FOBS), folículos aspirados (FASP), oócitos obtidos (TO), total de oócitos GI (G1), total de oócitos GII (G2), total de oócitos GIII (G3) e total de oócitos viáveis (OV) encontrados nas cabras da raça Anglo Nubiano submetidas a dieta com óleo de soja (C), dieta com Linhaça (L) e dieta com Megalac[®] (M)

	FOBS	FASP	TO	G1	G2	G3	OV
FO	0.66*	0.68*	0.66*	0.04*	0.27*	0.57*	0.61*
FV	0.69*	0.70*	0.60*	0.19*	0.36*	0.45*	0.59*
C1	0.55*	0.53*	0.39*	0.58*	0.51*	0.13*	0.47*
C2	0.57*	0.59*	0.56*	-0.06	0.20*	0.49*	0.49*
C3	0.21*	0.24*	0.38*	-0.27*	-0.09*	0.48*	0.26*

* denota significância do teste ($p < 0,05$).

6.5.1. Avaliações Sanguíneas

Não houve grandes intercorrências e todos os parâmetros se mantiveram dentro da normalidade entre os tratamentos e durante os períodos, com algumas ressalvas durante momentos do pós-operatório (Anexo 6).

Como não houve interação entre os fatores no hemograma e no perfil da bioquímica sérica, estes foram resumidos de acordo com os efeitos principais, tratamentos (Tabela 5) e períodos (Tabela 6, Tabela 7 e Anexo 5). Para uma melhor compreensão dos resultados obtidos das avaliações pré e pós-cirúrgicas, os dados foram descritos de acordo com os momentos de coleta (Anexo 6), devido ao jejum pré operatório para as variáveis COL, TRIG e GLIC foram incluídos na avaliação os momentos D30 e D65. Houve interação para a contagem de leucócitos totais e na contagem diferencial de leucócitos segmentados, os desdobramentos da interação estão contemplados na Tabela 8.

Entre os tratamentos (Tabela 5) não foi detectada diferença ($p > 0,05$), indicando que as fontes de gordura afetaram o metabolismo dos animais de forma semelhante, foi utilizado na formulação da ração a composição máxima de extrato etéreo recomendada para a ruminantes (BERCHIELLI et al., 2011), sabe-se que a linhaça pode inibir o consumo (FERNANDES et al., 2013), porém sem afetar o ganho de peso (ALEMU et al., 2010) corroborando com os achados do presente trabalho e em comparação com as outras fontes de gordura utilizadas não trouxe benefícios ao metabolismo das cabras Anglo-Nubianas.

O RBG, HGB, HCT, VCM, HCM e CHCM, não sofreram alterações e se mantiveram dentro da normalidade, demonstrando que não houve interferência como anemias, sangramentos severos ou parasitose.

Na análise do perfil da bioquímica sérica entre os períodos apenas a concentração de GLOB não variou. O período com maior valor das concentrações séricas de COL foi encontrado em P4 e P5 e em P1 o menor. Os maiores valores das concentrações plasmáticas de GLIC foram encontrados em P2, 3 e 4 e os menores em P0 e P1. Segundo LEROY et al.(2010), a lipemia (altos níveis de Colesterol e Triglicerídeos) nutricionalmente induzida pode comprometer a qualidade oocitária e a

viabilidade embrionária, isto poderia explicar o baixo número de oócitos G1 e G2, porém os animais estudados apresentaram todos os parâmetros dentro da normalidade (KANEKO et al., 2008) e em todos os tratamentos obteve-se uma boa taxa de maturação nuclear. A queda dos níveis de COL e TRIG com aumento de GLIC de D30 para D42 e de D65 para D70 (Anexo 6), sugerindo uma situação de balanço energético negativo (GONZALES et al.,2000; GONZALEZ & SCHEFFER, 2003), devido ao jejum que os animais são submetidos antes do procedimento cirúrgico, alternativas para se atenuar esses efeitos devem ser exploradas uma vez que alterações glucogênicas afetam o recrutamento folicular (LEITELIER et al.,2008).

O período com o maior valor das concentrações de PROT foi encontrado em P5 e o menor em P0, o maior valor de ALB ocorreu durante P4 e o menor em P1, o maior de FB ocorreu durante P3 e o menor em P0, PROT e GLOB não entre momentos após as LOPUSo, enquanto que ALB atingiu o nadir em D45 e o pico em D70 e FB apresentou dois picos (D45 e D75). Não foi notada diferença para COL, porém para TRIG houve uma queda dos teores séricos de D30 para D45 e o nadir atingido em D73 E GLIC teve um aumento de D30 para D42 e de D65 para D70.

O período de maior atividade da AST foi P5 e a menor P1, o maior de CK foi P0 e o menor P1, a atividade de AST se manteve dentro da normalidade (SILVA et al.,2004) enquanto que a de CK se manteve similar a situações de contenção e transporte (KANANN et al., 2000; KANNAN et al., 2007) e níveis de CK podem ser influenciados pela quantidade de extrato etéreo da dieta (SOLAIMAN et al.,2009). AST e CK apresentaram um aumento nas primeiras 24 horas após as LOPUs (Anexo 6), provavelmente devido a lesão tecidual inerente ao procedimento, porém essa alteração retornou aos patamares anteriores, nos momentos subsequentes. Quando há um aumento concomitante de CK e AST isto indica uma lesão tecidual recente, a CK tem meia vida curta enquanto a AST possui meia vida longa, mas ambas mostraram uma diminuição dos valores após 24 horas, indicando que não houve mais estímulo para a atividade dessas enzimas (TRHALL et al.,2007; KANEKO et al,2008).

O período de maior atividade de ALP foi P0, a GGT apresentou maior atividade em P4 e menor atividade em P1, 2 e 3, sempre dentro da normalidade (SILVA et al.,2004). ALP, GGT e AST são usadas como biomarcadores do funcionamento

hepático, como a atividade dessas enzimas não saiu da normalidade nem a a dieta e nem a LOPU causa danos a este sistema. As maiores concentrações séricas de CREAT foram encontradas em P4 e P5 e as menores em P0 e P1, as maiores de UUV em P0 e as menores em P3, P4 e P5.

Quanto ao comportamento das células brancas do sangue as contagens de eosinófilos, monócitos, basófilos e neutrófilos bastonetes foram muito pequenas e não se alteraram durante o experimento, LT se comportou de forma diferente entre os tratamentos e os períodos. As contagens de LT foram maior em C durante P5 ($p < 0,05$) e as contagens de NS foram maior em M durante P2 e em C durante P3, P4 e P5 ($p < 0,05$). Notando-se uma leucocitose no Grupo C após a primeira e a segunda LOPU, enquanto que nos grupos L e M não houve, segundo THRALL et al. (2007), em ruminantes a leucocitose com linfocitose e neutropenia pode ocorrer devido ao stress de contenção, transporte e jejum. Em caprinos a leucocitose com neutrofilia e linfopenia pode ser decorrente ao stress do transporte associado a um jejum (KANANN et al., 2000) e em procedimentos como a enterotomia (NAZIFI et al., 2000), diferentemente do que ocorreu neste estudo, e os valores ficaram muito próximos aos valores basais dos estudos de NAZIFI et al. (2000) e de KANANN et al. (2000), com excessão aos valores de LT no Grupo C durante P5, este fato pode ser decorrente da característica minimamente invasiva da LOPU, ou ao fato do uso de um antibiótico, que não foi usado por NAZIFI et al., (2000). Não se pode atribuir a maior valor de LT durante P5 a uma resposta inflamatória de maior intensidade atribuída unicamente a fonte de gordura, pois o número de folículos aspirados neste grupo foi maior, tão pouco pode se atribuir um efeito anti-inflamatório, nas condições deste trabalho, a semente de linhaça, pois as concentrações plasmáticas de Fibrinogênio e nos teores séricos de Albumina.

Tabela 5. Média e desvio-padrão das contagens de hemácias (Hem, $\times 10^6/\mu\text{L}$), teor de hemoglobina (hgb, g/dL), Hematócrito (HCT, %), volume corpuscular médio (VCM, fL), hemoglobina globular média (HGM, pg), concentração de hemoglobina globular média (CHGM, g/dL), contagem de leucócitos totais (LT, $\times 10^3/\mu\text{L}$), concentração séricas de Proteínas totais (PROT g/dL), Albumina (ALB g/dL) e Globulinas (GLOB g/dL) e os teores plasmáticos de Fibrinogênio (FB, mg/dL), Colesterol total (COL mg/dL), Triglicerídeos (TRIG mg/dL), Glicose (GLIC mg/dL), Uréia (UUV mg/dL), Creatinina (CREAT) e a atividade das enzimas Aspartato amino transferase (AST U/L), Fosfatase alcalina (ALP U/L), Creatinoquinase (CK U/L), Gama glutamil-transferase (GGT U/L), mg/dL), de cabras da raça Anglo-Nubiana submetidas a dieta com óleo de soja (C), a dieta com semente de Linhaça como fonte de gordura (L) e a dieta com Megalac[®] (M)

	C	L	M
Hemácias	17,7 ± 0,63	16,9 ± 0,91	17,8 ± 0,57
Hemoglobina	11,6 ± 0,35	11,0 ± 0,48	11,4 ± 0,36
Hematócrito	34,1 ± 1,22	32,1 ± 1,83	33,8 ± 1,24
VCM	19,2 ± 0,19	19,1 ± 0,19	19,0 ± 0,18
HCM	6,54 ± 0,12	6,56 ± 0,12	6,38 ± 0,10
CHCM	34,1 ± 0,39	34,4 ± 0,55	33,7 ± 0,41
Proteína Total	7,31 ± 0,24	7,16 ± 0,26	7,34 ± 0,21
Albumina	2,30 ± 0,14	2,13 ± 0,15	2,23 ± 0,12
Globulinas	5,01 ± 0,20	5,00 ± 0,24	5,11 ± 0,20
Fibrinogênio	442 ± 53,5	436 ± 47,4	415 ± 53,7
Colesterol Total	63,5 ± 5,81	56,7 ± 5,15	58,4 ± 4,42
Triglicerídeos	9,7 ± 1,33	10,4 ± 1,21	12,2 ± 2,01
Glicose	53,8 ± 2,19	65,4 ± 4,10	61,1 ± 3,41
Creatinina	1,41 ± 0,09	1,40 ± 0,09	1,44 ± 0,09
Uréia	48,5 ± 5,77	48,2 ± 5,25	44,6 ± 5,22
AST	66,4 ± 7,87	57,2 ± 4,93	57,8 ± 4,51
Fosfatase Alcalina	113 ± 13,2	108 ± 13,7	92,9 ± 11,2
CK	202 ± 51,7	145 ± 20,2	150 ± 21,3
GGT	75,1 ± 2,04	74,3 ± 1,69	77,1 ± 2,34

* Letras diferentes na mesma linha denotam diferença significativa para o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 6. Média e desvio-padrão das contagens de Hemácias (Hem, $\times 10^6/\mu\text{L}$), teor de Hemoglobina (HGB, g/dL), Hematócrito (HCT, %), Volume Corpuscular Médio (VCM, fL), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM, pg) e concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM, g/dL) das cabras Anglo-Nubiano de acordo com os períodos. Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU)

	P0	P1	P2	P3	P4	P5
Hemácias	17,1 ± 2,75	18,1 ± 2,51	18,7 ± 3,41	16,9 ± 3,26	16,9 ± 3,11	17,5 ± 3,04
Hemoglobina	10,7 ± 1,45	11,5 ± 1,37	11,9 ± 1,72	10,8 ± 1,87	11,1 ± 1,71	11,6 ± 1,72
Hematócrito	31,9 ± 5,47	34,4 ± 5,11	34,9 ± 7,71	31,9 ± 6,60	32,5 ± 6,15	33,9 ± 6,10
VCM	18,7 ± 0,92	19,0 ± 0,79	19,4 ± 0,97	18,9 ± 0,67	19,3 ± 0,80	19,2 ± 0,70
HCM	6,32 ± 0,60	6,38 ± 0,48	6,51 ± 0,48	6,47 ± 0,49	6,59 ± 0,48	6,60 ± 0,41
CHCM	33,9 ± 2,26	33,6 ± 1,77	33,8 ± 2,00	34,3 ± 2,21	34,3 ± 1,82	34,3 ± 1,82

Tabela 7. Média e desvio-padrão das concentração séricas de Colesterol total (COL mg/dL), Triglicerídeos (TRIG mg/dL), Glicose (GLIC mg/dL), Proteínas totais (PROT g/dL), Albumina (ALB g/dL), Globulinas (GLOB g/dL), Fibrinogênio (FB, mg/dL), Uréia (UUV mg/dL), Creatinina (CREAT) e a atividade das enzimas Aspartato amino transferase (AST U/L), Fosfatase alcalina (ALP U/L), Creatinoquinase (CK U/L), Gama glutamil-transferase (GGT U/L), mg/dL), de cabras da raça Anglo-Nubiana de acordo com os períodos. Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU)

	P0	P1	P2	P3	P4	P5
COL	52,6 ± 18,2 bc	47,8 ± 27,0 c	52,5 ± 19,8 bc	59,5 ± 18,4 ab	69,7 ± 16,5 a	69,1 ± 17,4a
TRIG	11,4 ± 2,68	12,1 ± 7,02	11,8 ± 5,88	9,21 ± 5,74	12,2 ± 8,91	9,28 ± 5,80
GLIC	51,4 ± 8,42 b	53,3 ± 10,2 b	67,9 ± 20,1 a	63,8 ± 14,7 a	62,2 ± 16,7 a	59,7 ± 11,8 ab
PROT	6,96 ± 0,95 b	7,14 ± 0,99 ab	6,99 ± 1,25 b	6,98 ± 0,89 b	7,51 ± 0,92 ab	7,72 ± 0,93 a
ALB	2,03 ± 0,36 bc	1,85 ± 0,66 c	2,22 ± 0,57 b	2,10 ± 0,57 bc	2,55 ± 0,34 a	2,52 ± 0,48 a
GLOB	4,93 ± 0,83	5,29 ± 0,98	4,77 ± 1,09	4,88 ± 0,81	4,96 ± 0,86	5,20 ± 0,82
FB	317 ± 104 c	375 ± 222 bc	361 ± 150 bc	517 ± 233 a	396 ± 186 abc	490 ± 232 ab
UUV	68,0 ± 20,5 a	55,6 ± 26,8 b	47,3 ± 11,1 bc	37,7 ± 20,1 c	43,6 ± 10,6 c	38,3 ± 17,4 c
CREAT	1,05 ± 0,16 d	1,18 ± 0,39 cd	1,56 ± 0,30 ab	1,36 ± 0,41 bc	1,60 ± 0,24 a	1,60 ± 0,35 a
AST	64,3 ± 24,9 ab	48,9 ± 29,1 c	54,3 ± 26,2 bc	63,7 ± 21,4 ab	62,9 ± 12,5 abc	69,3 ± 28,4 a
CK	183 ± 56,4 a	124 ± 76,7 b	194 ± 155 ab	157 ± 98 ab	154,2 ± 69 ab	187 ± 178 ab
ALP	134 ± 71,6 a	96,8 ± 54,2 c	91,5 ± 35,5 c	96,5 ± 45,0 c	125 ± 65,4 ab	104 ± 52,4 bc
GGT	75,5 ± 5,12 ab	73,4 ± 7,40 b	73,7 ± 8,08 b	74,2 ± 9,39 b	78,9 ± 8,21 a	77,2 ± 9,70 ab

Tabela 8. Média da contagem de leucócitos totais (LT, $\times 10^3/\mu\text{L}$) e a porcentagem de, leucócitos neutrófilos segmentados (NS) e leucócitos linfócitos (LINF) de acordo com os períodos e grupos experimentais. Período 0 (P0, momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (P1, contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (P2, contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do Início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (P3, contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (P4, contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (P5, contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU). Grupos experimentais, dieta com óleo de soja (C), a dieta com semente de Linhaça como fonte de gordura (L) e a dieta com Megalac[®] (M)

P	G	LT	NS	LINF
0	C	14,0 ± 3,55 B	42,3 ± 9,0 BC	53,2 ± 8,64
	L	15,5 ± 3,77 A	46,7 ± 11,4 A	48,2 ± 11,6
	M	15,3 ± 3,71 A	45,7 ± 9,9 ABC	49,0 ± 10,3
1	C	15,1 ± 3,79 B	38,8 ± 10,7 BC	55,0 ± 10,9
	L	15,9 ± 2,81 A	36,7 ± 9,9 A	53,8 ± 12,4
	M	14,5 ± 2,64 A	38,1 ± 10,6 BC	54,2 ± 11,7
2	C	14,7 ± 2,20 B	37,2 ± 9,4 BCb	56,5 ± 10,9
	L	16,3 ± 3,59 A	43,9 ± 14,6 Aab	51,7 ± 14,2
	M	17,6 ± 3,92 A	50,7 ± 11,0 Aa	46,5 ± 11,86
3	C	16,3 ± 4,30 AB	45,8 ± 13,1 ABa	49,7 ± 12,9
	L	14,4 ± 3,36 A	36,0 ± 12,3 Ab	59,3 ± 12,9
	M	15,1 ± 2,93 A	36,3 ± 11,6Bb	58,5 ± 16,4
4	C	13,6 ± 2,75B	35,4 ± 12,7 Ca	60,3 ± 13,0
	L	14,3 ± 3,36 A	36,8 ± 11,3 Ab	58,6 ± 11,4
	M	14,6 ± 4,00 A	49,0 ± 13,3 ABb	47,2 ± 13,2
5	C	18,5 ± 4,55 Aa	46,9 ± 12,8 Aa	49,5 ± 12,1
	L	14,1 ± 4,34 Ab	36,8 ± 12,8 Ab	60,4 ± 13,0
	M	15,0 ± 3,31 Ab	39,5 ± 11,8 Bb	58,1 ± 11,2

7. CONCLUSÕES

1. A dieta utilizando óleo de soja como fonte de gordura na situação apresentada do presente trabalho se mostrou a melhor escolha frente a semente de linhaça e ao Megalac[®] e a repetição do procedimento diminuiu o rendimento da LOPU.
2. As dietas não interferiram diferentemente na taxa de maturação.
3. Nenhuma das fontes de gordura foi capaz de influenciar o metabolismo e a resposta inflamatória antes e após o procedimento cirúrgico.
4. É possível examinar a condição folicular presente nos momentos das LOPU por ultrassonografia, de grande valia no auxílio da avaliação folicular e acrescentando principalmente o valor do diâmetro folicular e predizendo o número de folículos aspirados.

8. REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, R.B.; LIOW, S.L.; RAHMAN, A.N.M.A.; CHAN, W.K.; WAN-KHADIJAH, W.E.; NG, S.C. Prolonging the interval from ovarian hyperstimulation to laparoscopic ovum pick-up improves oocyte yield, quality, and developmental competence in goats. **Theriogenology**, v.70, p. 765–771, 2008.
- ADONA, P.R.; PIRES, P.R.; QUETGLAS, M.D.; SCHWARZ, K.R.; LEAL, C.L. Prematuration of bovine oocytes with butyrolactone I: effects on meiosis progression, cytoskeleton, organelle distribution and embryo development. **Animal Reproduction Science**, v.108, p.49–65, 2008.
- AISEN, EG. Reprodução Ovina e Caprina. 1ª. ed. – São Paulo: MedVet.2008.
- ANUALPEC 2011. **Anuário Estatístico da Produção Animal**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2011.
- ARMSTRONG, D.T.; KOTARAS, P.J.; EARL, C.R. Advances in production of embryos in vitro from juvenile and prepubertal oocytes from the calf and lamb. **Reproduction, Fertility and Development**, v.9, n.3, p.333-339, 1997.
- ALEMU, W.; MELAKU, S.; TOLERA, A. Supplementation of cottonseed, linseed, and noug seed cakes on feed intake, digestibility, body weight, and carcass parameters of Sidama goats. **Tropical Animal Health and Production**. V. 42, p.623–63, 2010.
- BALDASSARRE, H.; RAO, K.M.; NEVEU, N.; BROCHU, E.; BEGIN, I.; BEHBOODI, E.; HOCKEY, D.K. Laparoscopic ovum pick-up followed by in vitro embryoproduction for the reproductive rescue of aged goats of high genetic value. **Reproduction, Fertility and Development**, V. 19 , p. 612–616, 2007.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de ruminantes. Funep, p. 616. 2011.
- BRANN, D.W., WADE, M.F., DHANDAPANI, M.K., MAHESH, V.B., BUCHANAN, C.D. Leptin and Reproduction. **Steroids**, v.67, p.95-104. 2002
- CALDER, P.C. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. Res. v.31, p. 467–490. 1998.

- CALDER, P.C. n-3 fatty acids, inflammation, and immunity. Relevance to postsurgical and critically patients. **Lipids**. V.39, n.12, p. 1147-1161, 2004.
- COLE, D.C. et al. interpreting a bovine CBC: Evaluation the leukon and acute-phase proteins. **Veterinary Medicine**, London, v.92, n.5, p.470-478, 1997.
- CONNER, J.G.; ECKERSALL P.D.; FERGUSON, J. et al., Acute phase response in the dog following surgical trauma, **Veterinary Science**, v. 45, p. 107-110, 1988.
- CORDEIRO, M.F.; TEIXEIRA, P.P.M.; OLIVEIRA, M.E.F.; DI FILIPPO, P.A.; DIAS, D.P.M.; BERETTA, C.A.G.; DÓRIA, R.G.S.; FELICIANO, M.A.R.; COUTINHO, L.N.; VICENTE,W.R.R. Reproductive efficiency of adult and prepurbetal goats subjected to repeated follicular aspiration. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* V.66, n.1, p. 137-144, 2014.
- COX, J.F.; ALFARO, V. In Vitro Fertilization and Development of OPU Derived Goat and Sheep Oocytes. **Reproduction in Domestic Animals**. V.42, P.83–87,2007.
- CROZET, N.; AHMED-ALI, M.; DUBOS, M.P. Developmental competence of goat oocytes from follicles of diferente size categories following maturation, fertilization and culture in vitro. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 103, p. 293-298, 1995.
- ECKERSALL, P.D; CONNER, J.G. Bovine and canine acute phase proteins. **Veterinary Research Communication**, Netherlands, n.2-3, v.12, p.169-178, 1988.
- ERNST, E.; SARADETH, T.; ACHHAMMER, G. n-3 fatty acids and acute-phase proteins. **European Journal of Clinical Investigation**. v.21, p.77–82, 1991.
- FATET, A.; RUBIO, M.T.P.; LEBOEUF,B. Reproductive cycle of goats. **Animal Reproduction Science**, v.124, p. 211-219. 2011.
- FERNANDES, D.P.; VIEIRA, P.F.; RABELO, C.H.S.; RABELO, F.H.S.; SALVADOR, F.M.; REZENDE, A.V.; REIS, R.A. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes em ovinos alimentados com dietas contendo diferentes quantidades de farelo de linhaça. **Comunicata Scientiae**, V. 4, n.1, p. 58-66, 2013.
- FONSECA, J.F. Otimização da eficiência reprodutiva em caprinos e ovinos. In: I ENCAPRI, 2006, Campina Grande, **Anais.**, Campina Grande, 2006.
- GIBBONS, A.; BONNET,F.P.; CUETO, M.I.; CATALA, M.; SALAMONE, D.F.; GONZALEZ-BULNES, A. Procedure for Maximizing Oocyte Harvest for In Vitro Embryo Production in Small Ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**. V. 42, P.423–426, 2007.

GODSON, D.L.; CAMPOS, M.; ATTAH-POKU, S.K. et al. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.51, p.277-292, 1996.

GONÇALVES P.B.D., FIGUEIREDO J.R. & FREITAS V.J.F. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. 2ª ed. Roca, São Paulo. 2008.

GONZALEZ, F.H.D., BARCELLOS, J.O., OSPINA, H., RIBEIRO, L.A.O. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 2000.

GONZALEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: González, F.H.D.; Campos, R.. (Org.). **Anais... I Simpósio de Patologia Clínica da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.73-89. 2003.

GULLIVER, C.E., FRIEND, M.A., KING, B.J., CLAYTON, E.H. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle. **Animal Reproduction Science**. v.131. p. 9– 22. 2012

HAFEZ, E.S. E & HAFEZ, B. **Reprodução Animal** 7ª Ed, São Paulo: Manole, 2007. 513p.

HAMMICH, F., VUJKOVIC, M., WIJBURG, W., DE VRIES, J. H.M., MACKLON, N.S., LAVEN, J.S.E., STEEGERS-THEUNISSEN, R.P.M. Increased pre-conception omega-3 polyunsaturated fatty acid intake improves embryo morphology. **Fertility and Sterility**, vol.95, n. 5, 2011.

HOLTZ, W., SOHNREY, B., GERLAND, M., DRIANCOUR, M.-A. Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats. **Theriogenology**, núm. 69 p. 785–792, 2008.

IBGE. Produção da Pecuária Municipal-2010. Disponível em:

KANANN, G.; TERRIL, T.H.; KOUAKOU, B.; GAZAL, O.S.; GELAYE, S.; AMOAH, E.A.; SAMAKÉ, S. Transportation of goats: effects on physiological stress responses and live weight loss. **Journal of Animal Science** . v. 78, p.1450-1457, 2000.

KANANN, G.; TERRILL, T.H.; KOUAKOU, B.; GALIPALLI, S.; Blood metabolite changes and live weight loss following brown seaweed extract supplementation in goats subjected to stress. **Small Ruminant Research**, v.73, p. 228–234, 2007.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, p.916, 2008.

KANTEK, C.E.; NAVARRO, K.G. **Manual de hematologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2005. 206p.

KENT, J. Acute phase proteins: their use in veterinary diagnosis. **British Veterinary Journal**, v. 148, p.279-282, 1992.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

LEITELIER, C.; MALLO, F.; ENCINAS, T.; ROS, J.M.; GONZALES-BULNES, A. Glucogenic supply increases ovulation rate by modifying follicle recruitment and subsequent development of preovulatory follicles without effects on ghrelin secretion. **Reproduction**, v.136, p. 65–72, 2008.

LEROY, J.M.R.; HOECK, V.V.; CLEMENTE, M.; RIZOS, D.; GUITIERREZ-ADAN, A.; VAN SOOM, A.; UYTTERHOEVEN, M.; BOLS, P.E.J. The effect of nutritionally induced hyperlipidaemia on in vitro bovine embryo quality. **Human Reproduction**, Vol.25, No.3 pp. 768–778, 2010.

MENCHACA, A.; VILARIÑO, M.; CRISPO, M.; CASTRO, T.; RUBIANES, E. New approaches to superovulation and embryo transfer in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**. v. 22, p. 113–118, 2010.

MORAND-FEHR, P.; HERVIEU, J. Apprécier l'état corporel des chèvres: Intérêt et méthod. **Reussir la Chevre**, n.231, p.22-34, 1999.

MORTON, K.M.; GRAAF, S.P.; CAMPBELL, A.; TOMKINS, L.M.; CHIS MAXWELL, L.M.; EVANS. Repeat Ovum Pick-up and In Vitro Embryo Production from Adult Ewes with and without FSH Treatment. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 40, p.422–428, 2005.

MUHAMMAD, K.I.; MORLEDGE, T.; SACHAR, R.; ZELDIN, A.; WOLSKI, K.; BHATT, D.L. Treatment with ω -3 fatty acids reduces serum C-reactive protein concentration. **Clinical Lipidology**. V.6, p. 723-729. 2011.

MÜLLER, M.; PRADO, I.N.; LOBO JÚNIOR, A.R.; CAPOVILLA, L.C.T.; RIGOLON, L.P. Fontes de gordura ômega-3 e ômega-6 sobre a digestibilidade aparente de novilhas de corte confinadas. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.26, n.3, p.393-398, 2004.

MUNDIM, A.V. Influência da ordem e estádios da lactação no perfil bioquímico sanguíneo de cabras da raça Saanen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.306-312, 2007.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**. N 168, p. 24-40, 2004.

NAZIFI, S.; DEHGHANI, S.; BARZEGAR, M.R. Evaluation of cellular and biochemical parameters of blood and peritoneal fluid following enterectomy in the goat. **Small Ruminant Research**, v. 37, p. 65-71, 2000.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of small ruminant: sheep, goats, cervids and New World camelids**. Washington, D.C. 262p. 2006.

NUNOKAWA, Y.; FUJINAGA, T.; TAIRA, T. et al. Evaluation of serum amyloid A protein as an acute-phase reactive protein in horses. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 55, n. 6, p. 1011-1016, 1993.

OHTSUKA, H. et al. Effect of nutritional conditions on changes in leukocyte populations in Japanese black calves. **Journal of Veterinary Medical Science**, Oxford, v.67, n.2, p.183-185, 2005.

PADILHA, L.C.; TEIXEIRA, P.P.M.; PIRES-BUTTLER, E.A.; APPARÍCIO, M.; MOTHEO, T.F.; SAVI, P.A.P.; NAKAGHI, E.Y.O.; ALVES, A.E.; VICENTE, W.R.R. In vitro Maturation of Oocytes from Santa Ines Ewes Subjected to Consecutive Sessions of Follicular Aspiration by Laparoscopy. **Reproduction in Domestic Animals**. V. 49, p. 243–248, 2014.

PARAMIO, M.T. In vivo and in vitro embryo production in goats. **Small Ruminant Research**. V.89, p.144–148, 2010.

PIERSON, J.; WANG, B.; NEVEU, N.; SNEEK, L.; COTÉ, F. KARATZAS, C.N.; BALDASSARRE, H. Effects of repetition interval between treatments and season on the results from laparoscopic ovum pick-up in goats. **Reproduction, Fertility and Development**. V.16, p. 795-799, 2004.

R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

RIAZ, H.; SATTAR, A.; ARSHAD, M.A.; AHMAD, N. Effect of synchronization protocols and GnRH treatment on the reproductive performance in goats, **Small Ruminant Research**, n104, p. 151-155, 2012.

RIGOLON, L.P.; PRADO, I.N.; CAVALIERI, F.L.B.; NASCIMENTO, W.G.; COPOVILA, L.C.; RAMOS, F.S.; MOREIRA, F.B. Effect of the dry matter intake level on the sanguine profile of glucose, insulin, urea, estrogen and progesterone and concentration of IGF-I in the follicular liquid of crossbred heifers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, n.1, p. 61-68, 2009.

ROSSI, G.F. Efeitos da suplementação com fontes de ácidos graxos em doadoras das raças holandesa e nelore e nelore durante o pré e pós-parto, sobre o retorno à ciclicidade e produção *in vitro* de embriões. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do *Campus* de Jaboticabal – UNESP, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária – área de concentração: Reprodução Animal. Jaboticabal, SP, 2013.

RYAN, N. K.; VAN DER HOEK, K. H.; ROBERTSON, S. A.; NORMAN, R. J. Leptin and leptin receptor expression in the rat ovary. **Endocrinology**, v.144, n.11, p.5006-5013, 2003.

SAGAWA, N., YURA, S., ITOH, H., MISE, H., KAKUI, K., KORITA, D., TAKEMURA, M., NUAMAH, M.A., OGAWA, Y., MASUZAKI, H., NAKAO, K., FUJIII, S. Role of leptin in Pregnancy-A Review. **Trophoblast Research**, v.16, p 80-86, 2002.

SAQUETTI, C. H.C. Hemograma, perfil bioquímico e proteínas de fase aguda em bovinos e bubalinos submetidos a Laparotomia exploratória, tratados ou não com fenilbutazona. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Cirurgia Veterinária. Jaboticabal-SP. 2010.

SARTORI, R. & MOLLO, M.R. Influência da ingestão alimentar na fisiologia reprodutiva da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.2, p.197-204, 2007.

SCHNEIDER, J. E. Energy balance and reproduction. **Physiology & Behavior**, v. 81, p. 289-317, 2004.

SILVA, S.L.; FAGLIARI, J.J.; CESCO, F.T.R.S. Atividade sérica das enzimas AST, ALP, e GGT de caprinos das raças Anglo-Nubiana e Saanen criados nos estados de São Paulo e Paraíba. **Ars Veterinária**, v. 20, p.022-027, 2004.

SOLAIMAN, S.G.; GURUNG, N.K.; MCCRAY, Q.; GOYAL, H.; MCELHENNEY, W.H. Feeding performance and blood parameters of male goat kids fed Easiflo[®] cottonseed. **Small Ruminant Research**, v. 81, p.137–145, 2009.

SOUZA-FABJAN, J.M.G., PANNEAU, B., DUFFARD, N., LOCATELLI, Y., DE FIGUEIREDO, J.R., DE FIGUEIRÊDO FREITAS V.J., MERMILLOD, P. *In vitro* production of small ruminant embryos: Late improvements and further research, **Theriogenology**, v.81, p. 1021-1031, 2014.

SPEARS, J.W. Revaluation of the metabolic essenciality of the minerals. Review. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v.12, p.1002-1008, 1999.

SUTHERLAND, R.J.; WHITNEY, M.S. Acute phase proteins in bovine inflammatory diseases. **Texas Vet**, Austin, v.57, n.6, p.27-29, 1995.

TAKIGUCHI, M.; FUGINAGA, T.; NAIKI, M. et al. Isolation, characterization, and quantitative analysis of C-reactive protein from horses. **American Journal Veterinary Research**, v.51, n.8, p.1215-1220, 1990.

TAYLOR, J.A. Leukocyte responses in ruminants. In: FELDMAN, B.F. et al. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Philadelphia: Wilkins, 2000. p.891-898.

TEIXEIRA, P.P.M.; PADILHA, L.C.; OLIVEIRA, M.E.F.; MOTHEO, T.F. ; DA SILVA, A.S.L.; BARROS, F.F.P.C.; COUTINHO, L.N.; FLORES, F.N.; LOPES, M.C.S.; BANDARRA, M.B.; SILVA, M.A.M.; VASCONCELOS, R.O.; RODRIGUES, L.F.S.; VICENTE, W.R.R. Laparoscopic ovum collection in sheep: Gross and microscopic evaluation of the ovary and influence on oocyte production. **Animal Reproduction Science**, v. 127; p. 169– 175, 2011

THOMAS, M.G.; BAO, B.; WILLIAMS, G.L. Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence growth in cows fed with isoenergetic diets. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 12-25, 1997.

THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, p.592, 2007.

TRALDI A.S. **Biotécnicas aplicadas em reprodução de pequenos ruminantes**. III Feinco, 2006.

VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A.; FERREIRA, A.M.; AS, W.F.; FERNANDES, C.A.C.; MARQUES, A.P. Short intervals between ultrasonographically guided follicle aspiration improve oocyte quality but do not prevent establishment of dominant follicles in the Gir breed (*Bos indicus*) of cattle. **Animal Reproduction Science**. v. 84, p. 1–12. 2004.

WALKDEN-BROWN, S.W.; RESTALL B.J. Environmental and social factors effecting reproduction. Proceedings 6th Int. Conf. On Goats. Beijing 5 - 11 May. pp. 762 – 775, 1996.

WANG, S.; LIU, Y.; HOLYOAK, G.R.; EVANS, R.C.; BUNCH, T.D. A protocol for *in vitro* maturation and fertilization of sheep oocytes. **Small Ruminants Research**., Amsterdam, v.29, n.1, p.83-88, 1998.

WEISS, D.J.; PERMAN, V.P. Assessment of the hematopoietic system in ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v.8, n.2, p.411-429, 1992.

ZERON, Y., SKLAN, D., ARAV, A. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. **Molecular Reproduction and Development**. 61, 271–278, 2002.

9. ANEXOS

Anexo 1



Figura 3. Fotografia de cabras da raça Anglo-Nubiano no local de experimentação, em baias individuais.

Anexo 2

Detalhes da formulação das dietas resumidos na Tabela 1, contendo a quantidade de cada ingrediente que compõe a ração de cada tratamento e os níveis de Proteína, Energia (NDT) e Extrato etéreo. A Figura 2 exibe o aspecto visual do concentrado de cada dieta.

Tabela 9. Quantidade de Milho, farelo de Soja, Megalac, Semente de Linhaça e óleo de soja e núcleo mineral para compor 100Kg de concentrado de cada Tratamento.

	C	L	M
Milho	56	42.25	53.5
Farelo de Soja	32.5	27.5	33.12
Megalac	0	0	11.87
Linhaça	0	28.75	0
Óleo de Soja	10	0	0
Núcleo mineral	1.5	1.5	1.5
Silagem de milho	60	60	60
Composição da Dieta			
PB(%)	12.25	12.30	12.28
NDT(%)	75.75	75.69	75.78
EE(%)	6.67	6.46	6.68

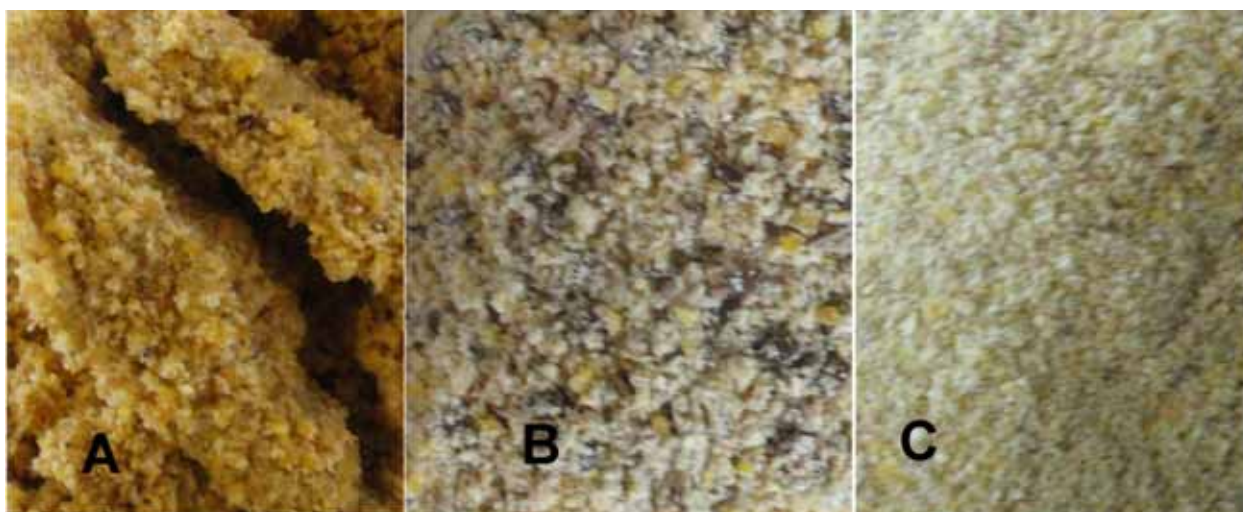


Figura 4. Fotografia das rações experimentais: (A) ração enriquecida com óleo de soja (grupo C); (B) ração enriquecida com semente de linhaça como fonte de gordura protegida (grupo L); e (C) ração enriquecida com MEGALAC como fonte de gordura protegida (grupo M).

Anexo 3

Meio de Lavagem:

9 mL solução TCM 199 HEPES

1 mL de soro inativado de cabra em estro

20 μ L de piruvato

50 μ L de solução antibiótico.

Anexo 4

Meio de Maturação:

9 mL de solução mãe TCM 199 bicarbonato

1 mL soro de cabra em estro inativado

20 μ L de piruvato

50 μ L de solução de antibiótico

10 μ L de FSH

100 μ L de LH

10 μ L de estradiol.

Anexo 5

Médias de RBG; HGB; HCT; VCM; HCM; CHCM

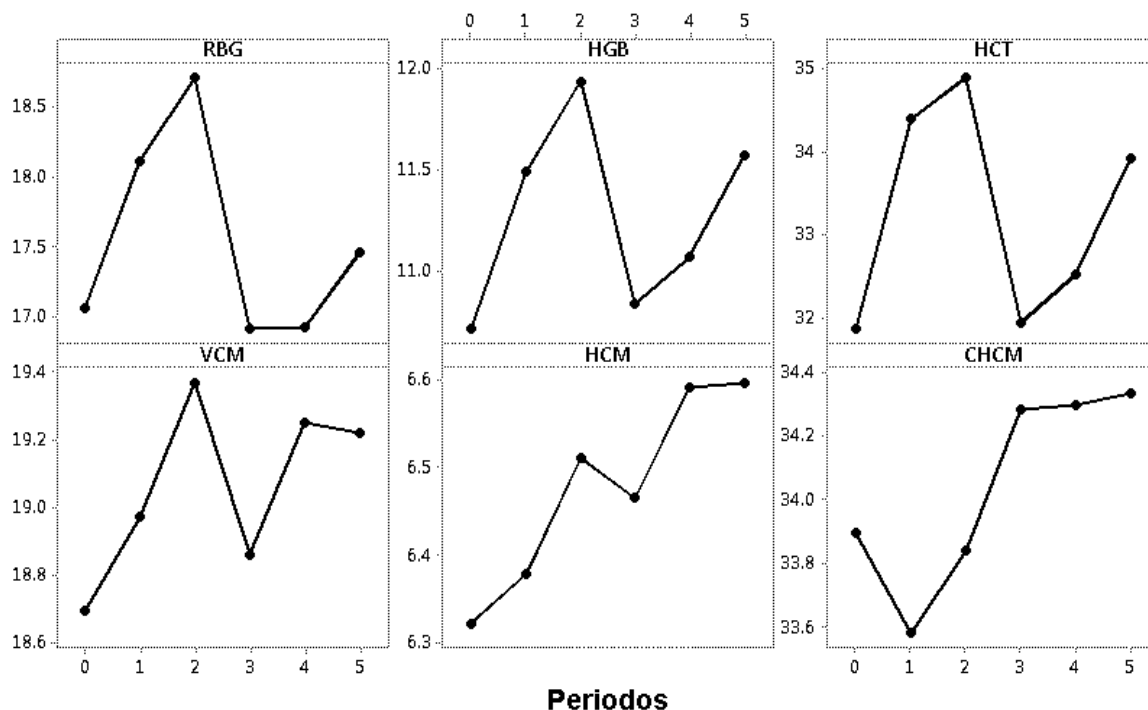


Figura 5. Média das contagens de hemácias (Hem, $\times 10^6/\mu\text{L}$), teor de hemoglobina (hgb, g/dL), Hematócrito (HCT, %), volume globular médio (VGM, fL), hemoglobina globular média (HGM, pg), concentração de hemoglobina globular média (CHGM, g/dL), de acordo com os períodos. Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU).

Médias de COL; TRIG; GLIC; PROT; ALB; GLOB

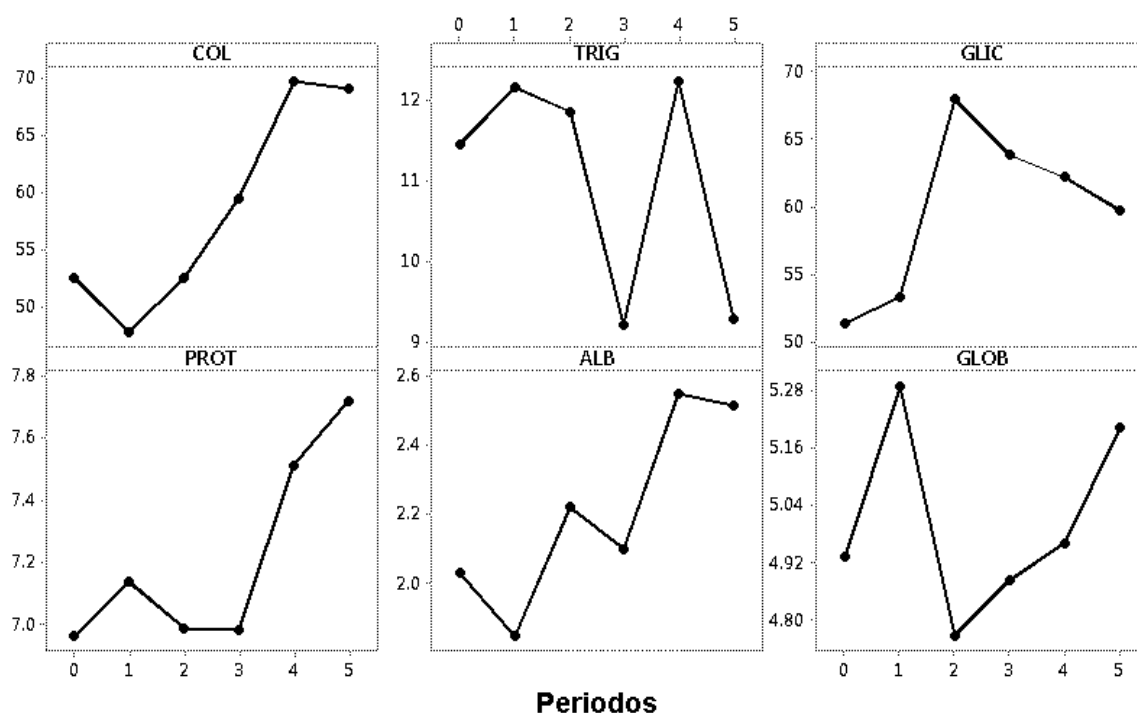


Figura 6. Média das concentrações séricas de Colesterol total (COL mg/dL), Triglicerídeos (TRIG mg/dL), Glicose (GLIC mg/dL), Proteínas totais (PROT g/dL), Albumina (ALB g/dL) e Globulinas (GLOB g/dL) e os teores plasmáticos de Fibrinogênio (FB, mg/dL), de acordo com os períodos experimentais. Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU).

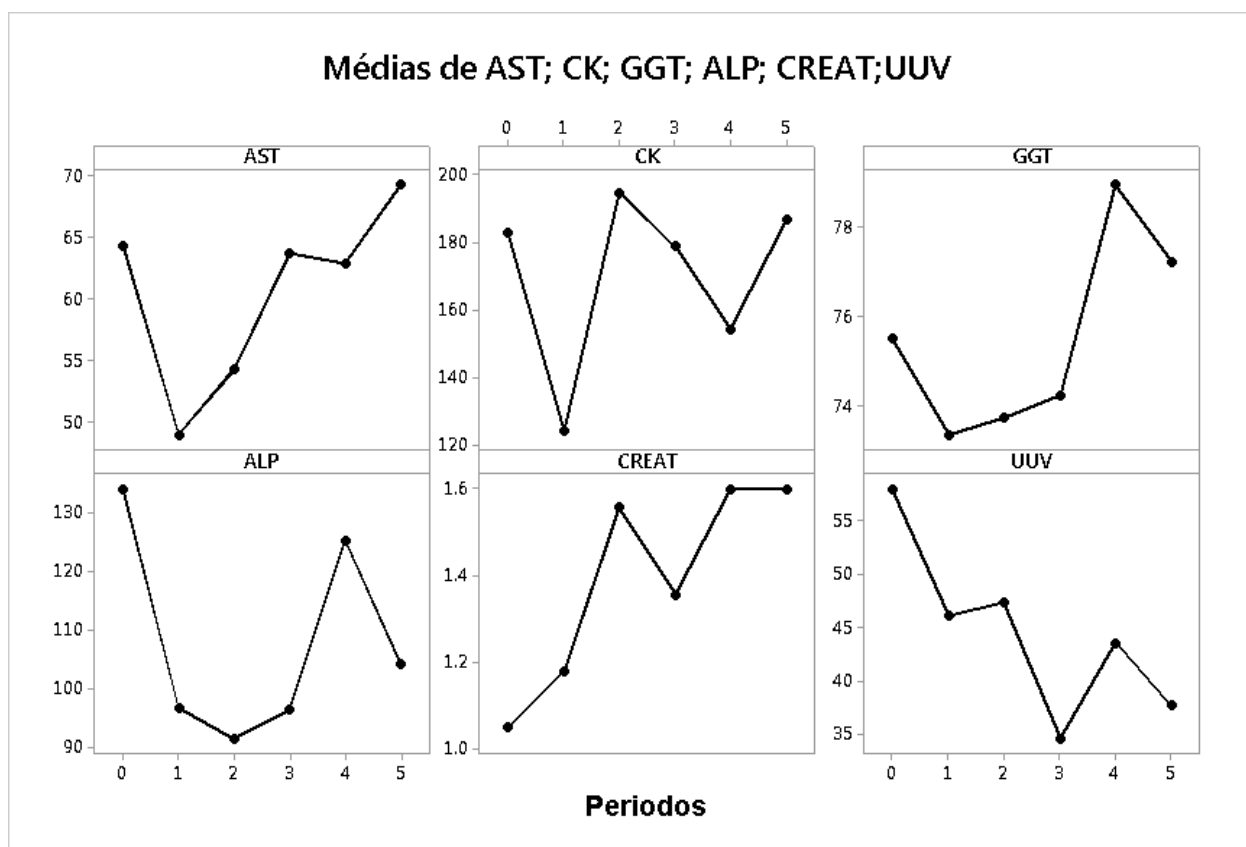


Figura 7. Médias da atividade das enzimas Aspartato amino transferase (AST U/L), Fosfatase alcalina (ALP U/L), Creatinoquinase (CK U/L) e Gama glutamil-transferase (GGT U/L, mg/dL) e das concentrações séricas de Uréia (UUV mg/dL), Creatinina (CREAT), de acordo com os períodos experimentais. .Período 0 (momento de coleta no início da fase de adaptação); Período 1 (contendo os momentos de coleta de D0 a D21 – antes do início do protocolo Ovsynch); Período 2 (contendo os momentos de coleta de D30 a D42 – do início do protocolo Ovsynch até a coleta imediatamente antes da primeira LOPU); Período 3 (contendo os momentos subsequentes a primeira LOPU, de D43 a D49); Período 4 (contendo os momentos de D58 a D70- do início do segundo Ovsynch até o momento imediatamente antes da segunda LOPU) e Período 5 (contendo os momentos subsequentes a segunda LOPU).

Anexo 6

Médias de PROT (g/dL); ALB(g/dL); GLOB (g/dL) e FIBR(g/dL) nos momentos pré e pós cirúrgicos

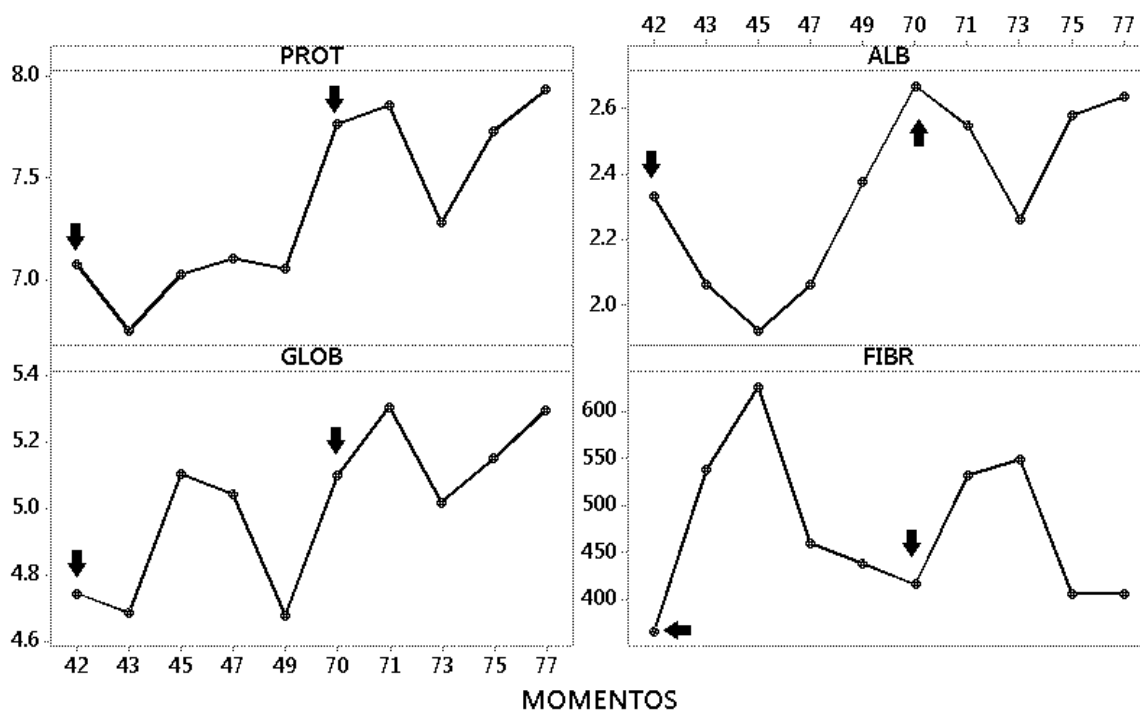


Figura 8. Média das concentração séricas de Proteínas totais (PROT g/dL), Albumina (ALB g/dL) e Globulinas (GLOB g/dL) e os teores plasmáticos de Fibrinogênio (FB, mg/dL), nos momentos pré cirúrgicos (42 e 70) indicadas pelas setas e nos momentos pós cirúrgicos (43, 45, 47, 49, 71, 73, 75, 77)

Médias de AST(UI/L); CK (UI/L) nos momentos pré cirurgicos e pós cirurgicos

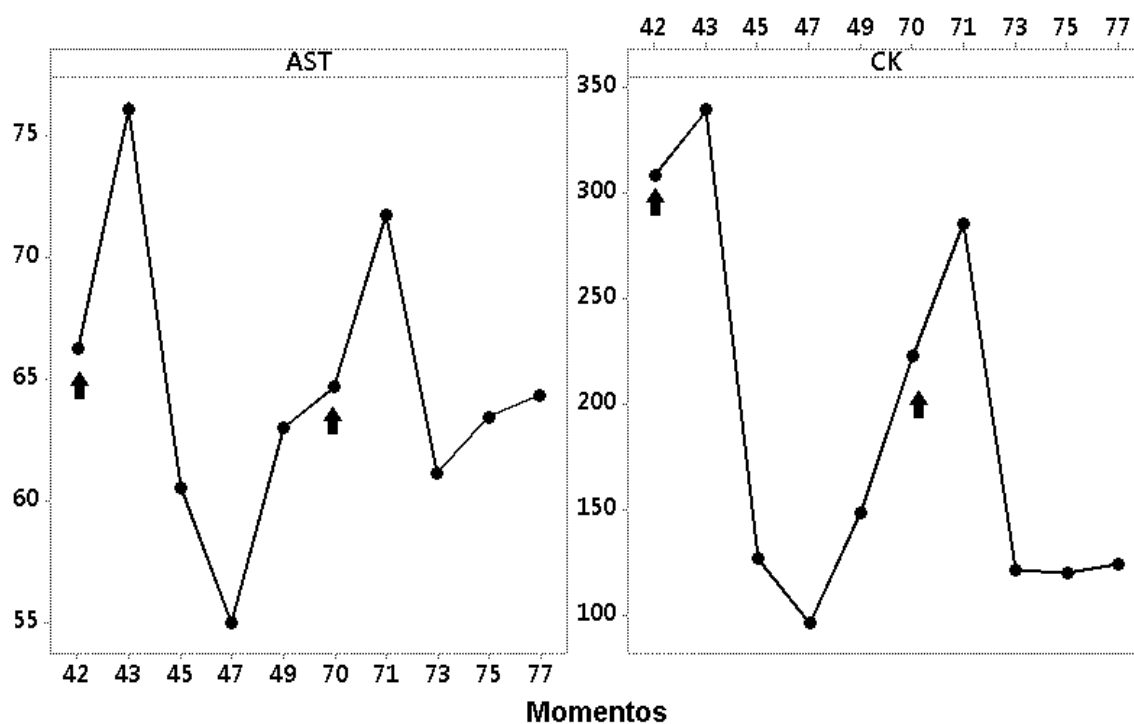


Figura 9. Médias da atividade das enzimas Aspartato amino transferase (AST UI/L), Creatinoquinase (CK UI/L) nos momentos pré cirurgicos (42 e 70) indicadas pelas setas e nos momentos pós cirurgicos (43, 45, 47, 49, 71, 73, 75, 77).

Médias de COL (mg/dL); TRIG (mg/dL); GLIC (mg/dL)

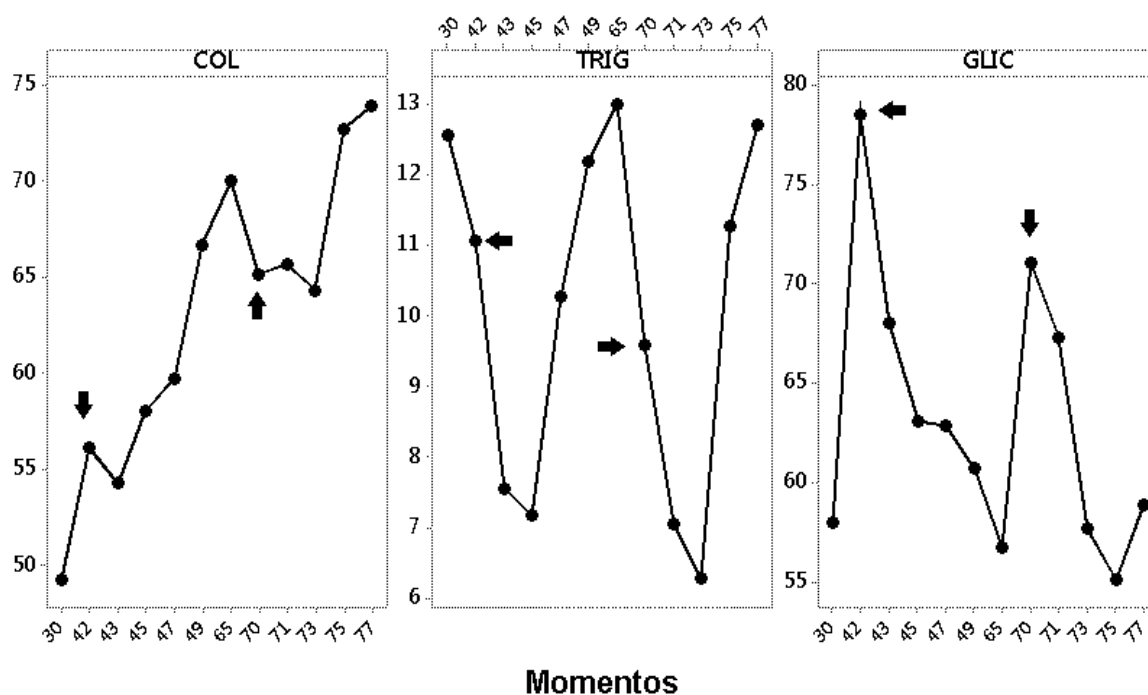


Figura 10. Médias das concentrações séricas de COL (mg/dL), TRIG (mg/dL), GLIC (mg/dL), nos momentos de início do protocolo Ovsynch (30 e 65), pré cirúrgicos (42 e 70) indicadas pelas setas e pós cirúrgicos (43, 45, 47, 49, 71, 73, 75, 77).

Médias de LT(x1000/uL); NS(%); LINF(%) nos momentos pré cirurgicos e pós cirúrgicos

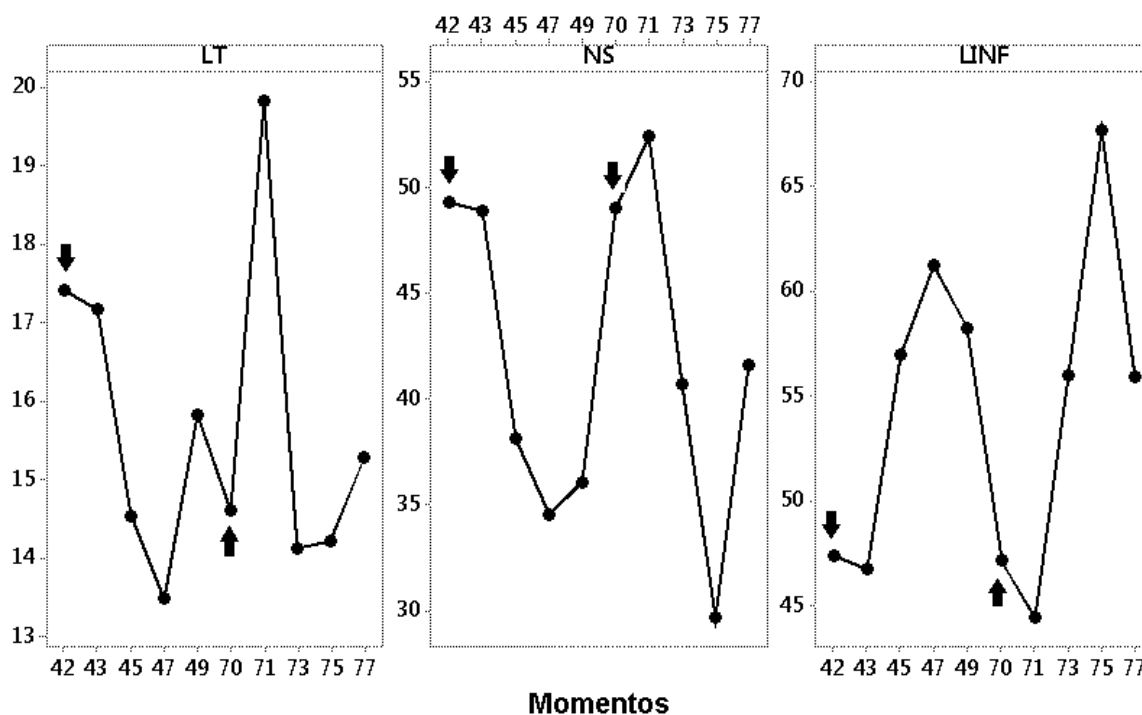


Figura 11. Média da contagem de leucócitos totais (LT, $\times 10^3/\mu\text{L}$) e a porcentagem de leucócitos neutrófilos segmentados (NS) e leucócitos linfócitos (LINF) nos momentos pré cirúrgicos (42 e 70) indicadas pelas setas e nos momentos pós cirúrgicos (43, 45, 47, 49, 71, 73, 75, 77).