

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 25/06/2020.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP**

**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**O EFEITO DA hCG, eCG E pFSH SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FUNCIONAIS DO  
CORPO LÚTEO DE CABRAS APÓS A INDUÇÃO DO ESTRO  
SINCRONIZADO**

**Juliane Teramachi Trevizan**

**Médica Veterinária**

**2018**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**

**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**O EFEITO DA hCG, eCG E pFSH SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FUNCIONAIS DO  
CORPO LÚTEO DE CABRAS APÓS A INDUÇÃO DO ESTRO  
SINCRONIZADO**

**Discente: Juliane Teramachi Trevizan**

**Orientadora: Profa. Dra. Maria Emília Franco Oliveira**

**Coorientador: Dr. Jeferson Ferreira Fonseca**

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de  
Jaboticabal, como parte das exigências para  
a obtenção do título de Doutor em Medicina  
Veterinária, área Reprodução Animal.**

**2018**

T814e	<p>Trevizan, Juliane Teramachi</p> <p>O efeito da hCG, eCG e pFSH sobre as características morfológicas e funcionais do corpo lúteo de cabras após a indução do estro sincronizado / Juliane Teramachi Trevizan. -- Jaboticabal, 2018</p> <p>49 p.</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientadora: Maria Emilia Franco Oliveira</p> <p>Coorientadora: Jeferson Ferreira da Fonseca</p> <p>1. Doppler Colorido. 2. Ecogeneidade,. 3. Heterogeneidade. 4. Ultrassonografia. I. Título.</p>
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA TESE:** O EFEITO DA hCG, eCG E pFSH SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FUNCIONAIS DO CORPO LÚTEO DE CABRAS APÓS A INDUÇÃO DO ESTRO SINCRONIZADO

**AUTORA:** JULIANE TERAMACHI TREVIZAN  
**ORIENTADORA:** MARIA EMILIA FRANCO OLIVEIRA  
**COORDENADOR:** JEFERSON FERREIRA DA FONSECA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MEDICINA VETERINÁRIA, área: REPRODUÇÃO ANIMAL pela Comissão Examinadora:

  
Profa. Dra. MARIA EMILIA FRANCO OLIVEIRA  
Depto de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Pós-doutoranda LUCIANA CRISTINA PADILHA NAKAGHI  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Prof. Dr. JOAQUIM MANSANO GARCIA  
Depto. de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Pesquisadora Dra. ERIKA DA SILVA CARVALHO MORANI  
INPRENHA / Top in Life Biotecnologia e Genética Animal - Jaboticabal/SP

  
Prof. Dr. GUILHERME PUGLIESI  
Departamento de Reprodução Animal-FMVZ/USP / Pirassununga/SP

Jaboticabal, 25 de junho de 2018

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Juliane Teramachi Trevizan – nasceu em Ivinhema-MS, no dia 2 do mês de dezembro de 1987; concluiu o ensino médio no Colégio Professora Maria Eunides de Melo, na cidade de Ivinhema-MS, em dezembro de 2004. Ingressou no curso de Graduação em Medicina Veterinária no Centro Universitário da Grande Dourados – UNIGRAN, na cidade de Dourados – MS, em fevereiro de 2005. Concluiu o curso superior em Medicina Veterinária em dezembro de 2008. Ingressou no programa de Residência de Residência Médico Veterinária, na área de Reprodução Animal, na Faculdade de Medicina Veterinária Campus de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista – UNESP entre fevereiro de 2009 a janeiro de 2011. Ingressou no curso de pós-graduação, nível de Mestrado em março de 2011 a julho de 2013, sob orientação da Adjunta Marion Burkhardt de Koivisto, no Programa de Medicina Veterinária, Área de Concentração em Reprodução Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Câmpus de Jaboticabal da Universidade Estadual Paulista – UNESP. Em março de 2014 iniciou na mesma instituição curso de pós-graduação, nível doutorado, sob orientação da Profa. Dra. Maria Emília Franco Oliveira, no Programa de Medicina Veterinária, Área de Concentração em Reprodução Animal.

## AGRADECIMENTOS

À minha família e em especial a Setsuko Teramachi (avó) e Daniel Henrique Panosso, pelo carinho e força para concretização desta etapa e por serem meus maiores incentivadores.

À minha orientadora Profa. Maria Emília Franco Oliveira que me acolheu com todo o carinho em um momento tão delicado, por ter acreditado em minha capacidade e por ter compartilhado grande parte do seu tempo e conhecimento. Obrigada por ter sido mais que uma orientadora, mas também uma amiga, uma conselheira e uma incentivadora. Enfim, por ter me mostrado o verdadeiro papel de um orientador.

Ao meu coorientador e pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Dr. Jeferson Ferreira Fonseca, que me recebeu de braços abertos em sua equipe e por ter dedicado tempo, conhecimento e recursos para a concretização do projeto.

Ao meu amigo de longa data Maurício Desck, por me receber em sua casa e por todo apoio que tive durante minha mudança para Juiz de Fora – MG.

À Embrapa Caprinos e Ovinos, pela disponibilização dos recursos financeiros e estruturais para o desenvolvimento do projeto, mas também pelas amizades ali construídas (Raquel, Vanessa, Sâmila, Marina, Jader, Camila).

As minhas queridas estagiárias Ana Carolina Pedrosa, Viviane Brair Lopes e Isabel Cosentino Oliveira que dedicaram tempo e esforços físicos e mentais; vencendo muitas vezes o cansaço para cumprirmos cada etapa do experimento. Obrigada pela amizade que construímos e pelos momentos inesquecíveis que passamos juntas.

À Dra. Ana Lúcia Maia que com muita paciência e simpatia me explicou cada detalhe das instalações da Embrapa e também por ter compartilhado parte do seu tempo e conhecimento durante meu período de treinamento.

Ao Dr. Mário Balaro que se deslocou do Rio de Janeiro para Coronel Pacheco – MG para me ajudar no delineamento experimental e por ter dividido sua experiência técnica e prática em ultrassonografia Doppler Colorido.

Ao Dr. Humberto e Sra. Marlene por ter aberto as portas de seu capril e por terem disponibilizados os animais para realização do estudo. Agradeço também ao Sr. Joaquim e à Imaculada Conceição funcionários do capril pela companhia, confiança, amizade e alegria que ali construímos.

Aos meus amigos de Araçatuba e Jaboticabal -SP: Luiz Gustavo Narciso, Eva Liliane Silva, Carlos Henrique Cancelli, Jefferson Figueira Fonseca, Caroline Facion, Paula Milena, Tabata, Ana Carolina Borsanelli, Natalia Cristina Souza, Milena, Simone e em especial a Laíza Silva.

Aos professores Dr. Joaquim Mansano Garcia, Dra. Erika da Silva Carvalho Morani, Dr. Guilherme Pugliesi e Dra. Luciana Cristina Padilha Nakaghi, pela valiosa participação na banca examinadora, com correções e dicas imprescindíveis.

Ao professor Luís Guilherme de Oliveira a quem tive a oportunidade de realizar o estágio docência.

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

A Embrapa Caprinos e Ovinos de Coronel Pacheco – MG, por fornecerem recursos financeiros e estruturais para execução do projeto.

A todos os animais utilizados neste projeto.



## SUMÁRIO

	<b>PÁGINA</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	iii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	iv
<b>RESUMO</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	4
2.1 Fisiologia Reprodutiva e Estacionalidade.....	4
2.1.1 Ciclo Ovariano.....	5
2.1.1.1 Fase Folicular.....	5
2.1.1.2 Fase Folicular no Período de Anestro.....	7
2.1.2.1 Fase Luteal.....	8
2.1.2.2 Luteinização.....	9
2.1.2.3 Corpo lúteo.....	11
2.1.2.4 Desenvolvimento e Regressão do Corpo Lúteo.....	12
2.2.3 Ciclo Estral.....	14
2.2.3.1 Características Comportamentais.....	15
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	19
3.1 Condições Éticas e Experimentais.....	19
3.2 Protocolos de Indução e Sincronização do Estro.....	19
3.3 Comportamento Estral e Acasalamento.....	20
3.4 Avaliações Ultrassonográficas.....	21
3.5 Dinâmica Folicular.....	21
3.6 Dinâmica Luteal.....	21
3.7 Análise Estatística.....	22
<b>4 RESULTADOS</b> .....	23
4.1 Dinâmica Folicular.....	23
4.2 Comportamento Estral e Taxas de Concepção.....	24
4.3 Dinâmica Luteal.....	25
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	32
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	39
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	40

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "Impactos de Aplicações de conhecimentos sobre Distúrbios Reprodutivos na Eficiência Reprodutiva de Caprinos Leiteiros", protocolada sob o CEUA nº 3050060218, sob a responsabilidade de **Jeferson Ferreira da Fonseca e equipe; Juliane Teramachi Trevisan** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Embrapa Gado de Leite (CEUA/EGL) na reunião de 03/05/2018.

We certify that the proposal "Impacts of application of knowledge of reproductive disorders on Reproductive Efficiency in Dairy Goats", utilizing 728 Caprines (males and females), protocol number CEUA 3050060218, under the responsibility of **Jeferson Ferreira da Fonseca and team; Juliane Teramachi Trevisan** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Embrapa Gado de Leite Corporate (CEUA/EGL) in the meeting of 05/03/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **05/2018** a **05/2021**

Área: **Núcleo Produção E Bem Estar Animal**

Origem:	<b>Campo Experimental José Henrique Bruschi</b>						
Espécie:	<b>Caprinos</b>	sexo:	<b>Machos e Fêmeas</b>	idade:	<b>1 a 6 anos</b>	N:	<b>48</b>
Linhagem:	<b>Caprinos leiteiros</b>			Peso:	<b>35 a 75 kg</b>		
Origem:	<b>Fazenda Particular</b>						
Espécie:	<b>Caprinos</b>	sexo:	<b>Machos e Fêmeas</b>	idade:	<b>1 a 6 anos</b>	N:	<b>680</b>
Linhagem:	<b>Caprinos leiteiros</b>			Peso:	<b>35 a 75 kg</b>		

Resumo: Este projeto tem por objetivo desenvolver, aplicar e avaliar impactos de ferramentas de reprodução assistida sobre a eficiência reprodutiva de caprinos leiteiros. A proposta está focada na identificação, tratamento e prevenção de problemas reprodutivos em caprinos leiteiros e transferência de tecnologia para o setor técnico. Para tanto, pretende-se (1) caracterizar a prevalência clínica-ultrassonográfica de patologias reprodutivas com vistas à melhor abordagem de tratamento e prevenção destas patologias nos animais acometidos; (2) analisar o perfil de proteínas do fluido uterino; (3) caracterizar economicamente o impacto destas patologias sobre a eficiência produtiva dos rebanhos. A hidrometria é o principal problema reprodutivo de caprinos leiteiros e, por consequência, aquele que mais compromete a eficiência produtiva do rebanho. Alvo de projeto em finalização, a amplitude dos resultados observados e identificação de outras necessidades de estudo apontaram para a necessidade de uma abordagem mais aprofundada do tema e outras patologias reprodutivas. Assim, a presente proposta manterá atividades focadas no levantamento e monitoramento das características reprodutivas dos rebanhos com ênfase na prevalência de hidrometria e alternativas para prevenção, estudo da sua etiologia, diagnóstico precoce, tratamento e utilização dos animais acometidos e também na sua prevenção. Características endócrinas, genéticas e econômicas também serão estudadas no contexto das patologias reprodutivas. A proteômica será utilizada para comparar o fluido uterino de fêmeas acometidas por hidrometria com fêmeas não acometidas por esta patologia. As avaliações genética e genômica poderão identificar famílias de animais mais susceptíveis e marcadores para distúrbios reprodutivos capazes de identificar precocemente animais com menor ou maior potencial para apresentar determinadas patologias. Uma das hipóteses para ocorrência da hidrometria está associada às condições de nutrição dos animais e, por este motivo, um monitoramento do manejo nutricional aplicado nos rebanhos colaboradores será acompanhado e avaliado em condições controladas de experimentação. Treinamento em manejo reprodutivo será dado para colaboradores de rebanhos associados.

Local do experimento: CJHB e rebanhos associados de caprinos leiteiros na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais. Cabe a instituição líder (Embrapa) prover todo o material de consumo e equipamentos necessários para a condução das práticas experimentais. Aos rebanhos parceiros cabe a manutenção dos animais nos moldes dos sistema de produção explorados/adotados nos criatórios conforme normas técnicas e categorias animais exploradas.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>3<math>\beta</math>HSH</b>	3 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase
<b>ANPT 1 :</b>	Angiopoentina tipo 1.
<b>ANPT 2:</b>	Angiopoentina tipo 2.
<b>Cm<sup>2</sup>:</b>	Centímetros ao quadrado.
<b>Cdks:</b>	Quinases dependentes de ciclinas.
<b>CYP<sub>450</sub>:</b>	Citocromo P 450.
<b>eCG:</b>	Gonadotrofina coriônica equina.
<b>FSH:</b>	Hormônio folículo estimulante.
<b>FGF-1:</b>	Fator de crescimento fibroblástico 1.
<b>FGF-2:</b>	Fator de crescimento fibroblástico 2.
<b>GnRH:</b>	Hormônio liberador de gonadotrofinas.
<b>HDL:</b>	Lipoproteínas de alta densidade.
<b>hCG:</b>	Gonadotrofina coriônica humana.
<b>IGF-1:</b>	Fator de crescimento insulina tipo 1.
<b>IGF-2:</b>	Fator de crescimento insulina tipo 2.
<b>Kg:</b>	Quilogramas.
<b>LH:</b>	Hormônio luteinizante.
<b>MAP:</b>	Medroxiprogesterona
<b>MEC:</b>	Matriz extracelular
<b>mm:</b>	Milímetros.
<b>mm<sup>3</sup>:</b>	Milímetros cúbico.
<b>Modo B:</b>	Modo Bidimensional.
<b>PKA:</b>	Proteína quinase.
<b>STARs:</b>	Proteínas regulatórias aguda esteroideogênicas.
<b>TIMP<sub>3</sub>:</b>	Inibidores da matriz de metaloproteinases.
<b>VNP:</b>	Valor numérico de pixels médio.
<b>RUNX 1:</b>	Fator de transcrição relacionado Runt 1.
<b>RUNX 2:</b>	Fator de transcrição relacionado Runt 2.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Média ( $\pm$  erro padrão) da dinâmica folicular em cabras leiteiras Toggenburg submetidas à indução do estro sincronizado com acetato de medroxiprogesterona (MAP, 6 dias), d-cloprostenol e diferentes gonadotrofinas (hCG – 300 UI, eCG – 200 UI ou pFSH – 30 UI), 24 h antes da remoção da esponja, durante o período de transição sazonal (dezembro, 21°S).
- Tabela 2** Média ( $\pm$  erro padrão) de parâmetros de estro, taxa de concepção e prenhez em cabras leiteiras Toggenburg submetidas ao protocolo de indução e sincronização do estro de curta duração (MAP, 6 dias) com diferentes gonadotrofinas (hCG – 300 UI, eCG – 200 UI ou pFSH – 30 UI), no período de transição sazonal (dezembro, 21°S).
- Tabela 3** Média ( $\pm$  erro padrão) de parâmetros de corpos lúteos formados (D 5 ao 28) após indução do estro sincronizado com acetato de medroxiprogesterona (MAP, 6 dias), d-cloprostenol e diferentes gonadotrofinas (hCG – 300 UI, eCG – 200 UI ou pFSH – 30 UI), 24 horas antes da remoção da esponja, no período de transição sazonal (dezembro, 21°S).
- Tabela 4** Média ( $\pm$  erro padrão) de parâmetros de corpos lúteos formados (D 5 ao 28) de cabra prenhes e não prenhe, após indução do estro sincronizado com acetato de medroxiprogesterona (MAP, 6 dias), d-cloprostenol e diferentes gonadotrofinas (hCG – 300 UI, eCG – 200 UI ou pFSH – 30 UI), 24 horas antes da remoção da esponja, durante o período de transição sazonal (dezembro, 21°S).
- Tabela 5** Média ( $\pm$  erro padrão) de parâmetros da ecogeneidade de corpos lúteos (D 5 ao 18) de cabra prenhe e não prenhe, após indução do estro sincronizado com acetato de medroxiprogesterona (MAP, 6 dias), d-cloprostenol e diferentes gonadotrofinas (hCG – 300 UI, eCG – 200 UI ou pFSH – 30 UI), no período de transição sazonal (dezembro, 21°S).
- Tabela 6** Média ( $\pm$  erro padrão) de parâmetros de heterogeneidade (Pixels) e vascularização (escore de vascularização e número de pixels coloridos) dos corpos lúteos (D5 a 28) de cabra prenhe e não prenhe no período de transição sazonal (dezembro, 21°S).

## O EFEITO DA hCG, eCG E pFSH SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FUNCIONAIS DO CORPO LÚTEO DE CABRAS APÓS A INDUÇÃO DO ESTRO SINCRONIZADO

**RESUMO** - O presente estudo testou a hipótese de que a hCG e pFSH estimulam o desenvolvimento folicular e de corpos lúteos, equivalente aos induzidos pela eCG em fêmeas caprinas. Cento e quinze cabras Toggenburg foram divididas e submetidas ao protocolo de curta duração (60 mg MAP, 6 dias; Dia - 8) durante o período sazonal de transição. Cada grupo recebeu 24 hs antes da remoção da esponja 22.5 µg d – cloprostenol e 200 UI eCG, ou 300 UI hCG ou 30 UI pFSH. A dinâmica folicular (n = 85 cabras) foi realizada desde o momento da aplicação da gonadotrofina (Dia - 3) até a detecção da ovulação. O início do estro (Dia 0) foi monitorada para avaliação do comportamento estral. As variáveis biométricas e vasculares do corpo lúteo (CL: área, diâmetro, volume, ecogeneidade, heterogeneidade, escore de vascularização e número de pixels coloridos) entre cabras prenhes e não prenhes foram avaliadas em momentos específicos (Dia 5, 8, 13, 18, 23 e 28) pela ultrassonografia bidimensional (Modo B) e Doppler Colorido. O diagnóstico de gestação foi confirmado pela detecção da vesícula embrionária, realizada sobre o Dia 28. O diâmetro do maior folículo no dia da aplicação da gonadotrofina e o tempo para o alcance do diâmetro máximo do folículo dominante foi maior e mais precoce no grupo eCG (P = 0,024 e P = 0,002; respectivamente). Cabras tratadas com eCG e pFSH apresentaram maiores dimensões foliculares (P = 0,003) e hCG, maior número de folículos ovulatórios (P = 0,004) e corpos lúteos (P = 0,0001). A ovulação ocorreu mais rápida no grupo eCG, mas todos os grupos apresentaram tempo similar entre o início do estro e ovulação (P = 0,048). Corpos lúteos de cabras prenhes do grupo hCG apresentaram diâmetro (P = 0,043) e volume (P = 0,046) menores sobre o Dia 18 (P = 0,001). A ecogeneidade do CL de cabras prenhes foi alta em todos os grupos sobre o Dia 28, comparado as avaliações iniciais (Dia 5 e 8) e baixa em CL de cabras não prenhes a partir do Dia 18 (P = 0,001). A heterogeneidade e vascularização do CL de cabras prenhes e não prenhes não foi influenciada pela interação entre tratamentos e dia da avaliação (P > 0,05). Mas independente do tratamento, CLs de cabras prenhes apresentaram maior heterogeneidade e maior área de vascularização ao longo dos dias de avaliação (P = 0,001). Ao contrário, CLs de cabras não prenhes mostraram redução dos valores de vascularização e heterogeneidade a partir do Dia 18 e 23, respectivamente (P < 0,001). A taxa de concepção média foi de 65,76 % e taxa de de prenhez equivalente a 62,72 %, não diferindo entre os grupos experimentais. A hCG e pFSH são equivalentes à eCG na indução da resposta ao estro, na taxa de ovulação, concepção e prenhez, entretanto há diferenças na dinâmica folicular e luteal. O curto intervalo de tempo entre a remoção da esponja e ovulação observado no grupo eCG, provavelmente está relacionada ao maior diâmetro do maior folículo no dia da aplicação da gonadotrofina. Desta forma, diferenças encontradas nas dimensões foliculares entre os grupos não estão exclusivamente relacionadas ao tipo de gonadotrofina, mas com o status folicular no momento da administração da gonadotrofina. Independente, hCG e pFSH foram capazes de promover o

desenvolvimento folicular adequado, visto que o diâmetro do maior folículo ovulatório foram similares de cabras tratadas com eCG. Quanto as diferenças encontradas nas características biométricas e ecogênicas dos CLs, estas devem-se a maior capacidade ovulatória da hCG, que por sua vez resultaram em CLs de menor diâmetro e volume e maior valor de pixel de ecogeneidade. No entanto, estes achados não se remetem a uma anormalidade, desde que as mudanças morfológicas do CL ao longo dos dias das avaliações foram evidenciadas entre os grupos e as alterações vasculares foram distintas apenas com relação a categoria do CL (prenhe e não prenhe).

**Palavras-chave:** Doppler Colorido, Ecogeneidade, Heterogeneidade, Ultrassonografia

## THE EFFECT OF hCG, eCG AND pFSH ABOUT THE MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE GOAT CORPORA LUTEA AFTER THE INDUCTION OF THE SYNCHRONIZED ESTRUS

**ABSTRACT** – The present study tested the hypothesis that hCG and pFSH stimulate follicular and corpora lutea growth, equivalent to those induced by the eCG in goat females. Toggenburg goats (n = 115) were divided and submitted to the short duration protocol (60 mg MAP, 6 days; Day – 8) during the seasonal transition period. Each group received 22.5 µg d – cloprostenol and 200 IU eCG, or 300 IU hCG or 30 UI pFSH, 24 hours before the sponge removal. The follicular dynamics (n = 85 goats) were performed from the moment of the application of gonadotropin (Day - 3) until the detection of ovulation. The onset of estrus (Day 0) was monitored for evaluation of estrus behavior. The biometric and vascular variables of the corpus luteum (CL: area, diameter, volume, ecogeneity, heterogeneity, vascularization score and number of colored pixels) between pregnant and non-pregnant goats were evaluated at specific times (Day 5, 8, 13, 18, 23 and 28) by two-dimensional ultrasound (Mode B) and Color Doppler. The pregnancy diagnosis was confirmed by detection of the embryonic vesicle performed on Day 28. The diameter of the largest follicle on the day of application of gonadotrophin and the time to reach the maximum diameter of the dominant follicle was higher and earlier in the eCG group (P = 0.024 and P = 0.002, respectively). Goats treated with eCG and pFSH presented greater follicular dimensions (P = 0.003) and hCG, greater number of ovulatory follicles (P = 0.004) and corpora lutea (P = 0.0001). Ovulation occurred faster in the eCG group, but all groups showed similar time between the onset of estrus and ovulation (P = 0.048). Luteal bodies of pregnant goats of the hCG group presented smaller diameter (P = 0.043) and volume (P = 0.046) on Day 18 (P = 0.001). The ecogeneity of CL in pregnant goats was high in all groups on Day 28, compared to initial evaluations (Day 5 and 8) and low in CL of non-pregnant goats from Day 18 (P = 0.001). The heterogeneity and vascularization of CL from pregnant and non-pregnant goats was not influenced by the interaction between treatments and day of the evaluation (P > 0.05). However, regardless of the treatment, CLs of pregnant goats showed greater heterogeneity and greater area of vascularization during the evaluation days (P = 0.001). Unlike, CLs from non-pregnant goats showed reduced values of vascularization and heterogeneity from Day 18 and 23, respectively (P < 0.001). The mean conception rate was 65.76% and the pregnancy rate was 62.72%, not differing between the experimental groups. hCG and pFSH are equivalent to eCG in inducing estrus response, ovulation rate, conception and pregnancy, however there are differences in follicular and luteal dynamics. The short interval between sponge removal and ovulation observed in the eCG group is probably related to the larger diameter of the largest follicle on the day of gonadotrophin application. Thus, differences in follicular dimensions between groups are not exclusively related to the type of gonadotrophin, but to the follicular status at the time of administration of gonadotrophin. Independent, hCG and pFSH were able to promote adequate follicular development, since the diameter of the largest ovulatory follicle were similar for goats treated with eCG. As for the differences in the biometric and echogenic characteristics of CLs, these are due to the greater ovulatory

capacity of hCG, which in turn resulted in CLs of smaller diameter and volume and higher pixel value of ecogeneity. However, these findings do not reimpose an abnormality, since the morphological changes of CL throughout the days of the evaluations were evidenced between the groups and the vascular alterations were distinct only with respect to CL category (pregnant and not pregnant).

**Key-words:** Color Doppler, Ecogeneity, Heterogeneity, Ultrasonography



## 1 INTRODUÇÃO

Cabras são espécies sazonais dependentes das variações anuais do fotoperíodo para se reproduzirem (FATET; PELLICER-RUBIO; LEBOEUF, 2011a). Devido a esta particularidade, a produção de leite e derivados pode sofrer flutuações que podem gerar grandes perdas econômicas (FATET; PELLICER-RUBIO; LEBOEUF, 2011a). Desta forma, o manejo reprodutivo por meio da indução e/ou sincronização do estro torna-se indispensável para que a oferta dos produtos lácteos mantenha-se constante ao longo do ano (ABECIA; FORCADA; GONZÁLEZ-BULNES, 2012).

A sincronização de estro pode ser realizada pelo prolongamento ou encurtamento da fase lútea com o uso respectivamente de progesterona e prostaglandina exógenos (Fatet et al., 2011). Ambos possuem o objetivo de obter o maior número de fêmeas com estro sincronizado entre 24 a 72 h após a remoção da fonte de progesterona/progestágeno ou da aplicação da prostaglandina (FATET; PELLICER-RUBIO; LEBOEUF, 2011a; BALARO et al., 2017b). A associação de gonadotrofinas é recomendada a fim de estimular o crescimento e maturação folicular, e conseqüentemente, a taxa de ovulação (MENCHACA et al., 2007; COX et al., 2012; ADRIYANTO et al., 2017). O uso é especialmente importante nas fases de anestro e transição sazonal, ou ainda em fêmeas em condição de não ciclicidade (animais em puerpério, lactação e/ou baixo escore de condição corporal) (KAWATE et al., 2002; FONSECA et al., 2005b; ALVARADO-ESPINO et al., 2016).

A gonadotrofina mais utilizada é eCG, no entanto, em razão da possível queda da fertilidade pelo seu uso frequente associado a produção de anticorpos anti-eCG, diferentes gonadotrofinas como hCG e FSH são recomendadas como novas alternativas para indução e sincronização de estro em cabras (ALVARADO-ESPINO et al., 2016; FONSECA et al., 2005; Hervé et al., 2004). Todas estas gonadotrofinas tem garantido altas taxas de respostas ao estro (~ 92.5 %) e desenvolvimento folicular adequado, entretanto, apesar de resultarem em similares taxas de concepção, estas podem variar de 40 a 100 % (FONSECA et al., 2005b, 2017; SOUZA et al., 2011; PIETROSKI et al., 2013).

Esta variação pode ser relacionada a múltiplos fatores, mas, especificamente, para que concepção seja alcançada é indispensável adequado desenvolvimento folicular, ovulação e dinâmica luteal, os quais garantam a produção de oócito(s) com competência fecundante e funcionalidade luteal que proporcionem ambiente uterino favorável ao desenvolvimento e implantação embrionário. Portanto, o sucesso de um protocolo de sincronização é aquele que promove a ovulação de folículos saudáveis e corpos lúteos funcionais capazes de produzirem quantidades adequadas de progesterona (TORTORELLA et al., 2013).

Espera-se que as gonadotrofinas (eCG, FSH e hCG) atuem de forma diferente sobre a atividade ovariana, devido a suas particularidades químicas e farmacocinéticas. A eCG tem dupla atividade (FSH e LH) e meia vida longa ( $\geq 50$  h) (MURPHY, 2012). A hCG tem ação majoritária de LH, e em cabras possui rápida absorção e meia vida longa (~ 39 h, podendo ser até 106 h) (SALEH et al., 2012). Os preparados comerciais de FSH podem variar seu grau de purificação (relação FSH:LH) e tem meia vida curta (~ 10 h), (DE RENSIS et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2014; FONSECA et al., 2017).

Estas diferenças podem refletir na qualidade do folículo/oócito e conseqüentemente no corpo lúteo (TORTORELLA et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2014), entretanto, ainda há escassez de conhecimentos sobre seus efeitos na dinâmica folicular em fêmeas caprinas (FONSECA et al., 2017) e nenhum estudo sobre a dinâmica luteal de cabras submetidas a sincronização do estro com as diferentes gonadotrofinas, bem como, da relação destes resultados com a concepção.

As gonadotrofinas utilizadas para indução do estro e ovulação podem, direta ou indiretamente, influenciar a qualidade do corpo lúteo em diferentes espécies. Estudos em vacas e ovelhas tem demonstrado que eCG, hCG e FSH podem influenciar o número corpos lúteos e as características morfológica do tecido luteal interferindo de forma positiva sobre a capacidade esteroidogênica (FÁTIMA et al., 2013; RIGOGGIO et al., 2013; COLESON et al., 2015). A eCG estimula o aumento do número de células luteais grandes e de mitocôndrias do corpo lúteo bovino, bem como estimula diversos fatores de crescimento e angiogênicos; estas características estão associadas a maior síntese esteroidogênica (RIGOGGIO et al., 2013; SOUSA et al., 2016). O FSH induz corpos lúteos de adequada funcionalidade em vacas por aumentar a expressão de

fatores angiogênicos. A hCG, como promotor do crescimento folicular tem-se mostrado adequado, porém as características dos corpos lúteos induzidos por estes tratamentos não tem sido relatadas (KAWATE et al., 2002; FONSECA et al., 2005b, 2017; ALVARADO-ESPINO et al., 2016)

Considerando a ausência de estudos em caprinos é de extrema importância identificar características da dinâmica luteal em resposta ao tratamento com diferentes gonadotrofinas nesta espécie para melhoria da eficiência dos protocolos. O presente estudo testou a hipótese de que a hCG e FSH estimulam o desenvolvimento folicular e de corpos lúteos, pelo mesmo, de maneira equivalente aos induzidos pela eCG em fêmeas caprinas. Desta forma, objetivam-se: a) avaliar o efeito da eCG, hCG e FSH sobre a dinâmica folicular de cabras desde o momento da aplicação da gonadotrofina até a ovulação; b) estudar características morfofuncionais de corpos lúteos formados em resposta aos tratamentos; e c) determinar a taxa de concepção de fêmeas com estro sincronizado pelos diferentes protocolos.

## 6 CONCLUSÃO

A hCG e o pFSH são eficientes quanto a eCG na indução da resposta ao estro sincronizado, taxa de concepção e prenhez, entretanto, há diferenças na dinâmica folicular. O intervalo de estro e ovulação após a remoção da esponja foi mais curto no grupo eCG, em consequência de folículos com maiores diâmetros no momento da aplicação da gonadotrofina. A hCG induz maior taxa de ovulação, que levou ao desenvolvimento de corpos lúteos de dimensões menores a eCG e pFSH. Todas as gonadotrofinas resultam no desenvolvimento de corpos lúteos semelhantes e funcionais. As diferenças encontradas nas variáveis diâmetro, volume, ecogeneidade no corpo lúteo de cabras prenhes e não prenhes dos grupos experimentais, remetem-se a capacidade ovulatória de cada gonadotrofina. Conclui-se com base nos achados do comportamento estral, dinâmica folicular, luteal e nas taxas de concepção e prenhez que o uso de hCG e pFSH são alternativas equivalentes a eCG, inclusive quando utilizadas para indução do estro no período de transição. Ademais, recomenda-se que o uso de hCG deva-se priorizado em fêmeas de baixa prolificidade, visto a sua maior capacidade ovulatória.

## 7 REFERÊNCIAS

Abecia JA, Forcada F, González-Bulnes A (2012) Hormonal control of reproduction in small ruminants. **Animal Reproduction Science** 130:173–179.

Adriyanto A, Rahminiwati M, Boediono A, Manalu W (2017) Optimum dose and time of pregnant mare serum gonadotropin. **Small Ruminant Research** 149:147–153.

Alvarado-espino AS, Meza-Herrera ca, Carrillo E, González-Álvarez VH, Guillen-Muñoz J M, Ángel-García O, Mellado M, Véliz-Deras FG (2016) Reproductive outcomes of Alpine goats primed with progesterone and treated with human chorionic gonadotropin during the anestrus-to-estrus transition season. **Animal Reproduction Science** 167:133–138.

Arashiro EK, Fonseca JF, Siqueira LGB, Fernandes CA, Brandão FZ, Oba E, Viana JH (2010a). Assessment of luteal function in goats by ultrasonographic image attribute analysis. **Small Ruminant Research** 94:176–179.

Arashiro EK, Ungerfeld R, Clariget RP, Pinto PHN, Balaro MFA, Bragança GM, Ribeiro, LS, Fonseca JF, Brandão FZ (2018) Early pregnancy diagnosis in ewes by subjective assessment of luteal vascularisation using colour Doppler ultrasonography. **Theriogenology** 106: 247–252.

Arashiro, E. K. N.; Viana, J. H. M.; Fonseca, J. F. da; Camargo, L. S. de A.; Fernandes, C. A. de C.; Brandão, F. Z. (2010c) Luteal dynamics in goats: morphological and endocrine features. **Revista Brasileira de Zootecnia** 39:1937–1942.

Arikan Ş, Yigit AA (2003). Changes in the size distribution of goat steroidogenic luteal cells during pregnancy. **Small Ruminant Research** 47:227–231.

Balaro, M. F. A.; Santos, A. S.; Moura, L. F. G. M.; Fonseca, J. F.; F, Z. B (2017a). Luteal dynamic and functionality assessment in dairy goats by luteal blood flow, luteal biometry, and hormonal assay. **Theriogenology** 95:118–126.

Balaro MFA, Souza-Fabjan JMG, Cortês LR, Maia ALRS, Ungerfeld R, Fonseca JF, Brandão FZ (2017b) Sincronização e indução do estro em caprinos leiteiros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** 41: 330–339.

Baril G, Remy B, Leboeuf JF, Saumande J (1996) Synchronization of estrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. **Theriogenology** 45:1553–1559.

Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Rawlings NC (1998) Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility** 113:275–285.

Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC (1999a) Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus. **Animal Reproduction Science** 57:51–66.

Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC (1999b) Ovarian function in ewes at the onset of the breeding season. **Animal Reproduction Science** 57: 67–88.

Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC (1999c) An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. **Theriogenology** 52: 115–130.

Bedos M, Flores JA, Fitz-Rodríguez G, Keller M, Malpoux B, Poindron P, Delgadillo JA (2010) Four hours of daily contact with sexually active males is sufficient to induce fertile ovulation in anestrus goats. **Hormones and Behavior** 58:473–477.

Camp JC, Wildt DE, Howard PK, Stuar TLD, Chakraborty PK (1983) Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. **Biology of Reproduction** 28: 673–681.

Castro T, Rubianes E, Menchaca A, Rivero A (1999) Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. **Theriogenology** 52:399–411.

Chasles M, Chesneau D, Moussu C, Poissenot K, Beltramo M, Delgadillo JA Chemineau P, Keller M (2018) Sexually active bucks are a critical social cue that activates the gonadotrope axis and early puberty onset in does. **Hormones and Behavior**, in press: 81–92.

Cheminea P, Gauthier D, Poirier JC, Saumande J (1982) LH,FSH, prolactin, oestradiol 17 $\beta$  and progesterone during natural and induced oestrus in the dairy goat. **Theriogenology** 17: 313–323.

Coleson MPT, Sanchez NS, Ashley AK, Ross TT, Ashley RL (2015) Human chorionic gonadotropin increases serum progesterone, number of corpora lutea and angiogenic factors in pregnant sheep. **Reproduction** 150: 43–52.

Cosentino IO, Balaro MFA, Leal FSC, Carvalho ABS, Cortat SPR, Arashiro EKN, Brandão FZ (2018) Accuracy of assessment of luteal morphology and luteal blood flow for prediction of early pregnancy in goats. **Theriogenology** 121:104–111.

Cox JF, Allende R, Lara E, Leiva A, Díaz T, Dorado J, Saravia F (2012) Follicular Dynamics, Interval to Ovulation and Fertility After AI in Short-Term Progesterone and PGF<sub>2</sub> $\alpha$  Oestrous Synchronization Protocol in Sheep. **Reproduction in Domestic Animals** 47:946–951.

Cueto M, Gibbons A, Alberio R, Taddeo H, Gonzalez-Bulnes A (2006) Timing of emergence of ovulatory follicles in polyovulatory goats. **Animal Reproduction Science**, 91:275–284.

Davies KL, Bartlewski PM, Pierson RA, Rawlings NC (2006) Computer assisted image analyses of corpora lutea in relation to peripheral concentrations of progesterone: A comparison between breeds of sheep with different ovulation rates. **Animal Reproduction Science** 96:165–175.

De Rensis F, López-Gatiús F, García-Ispuerto I, Techakumpu M (2010) Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: An update. **Theriogenology** 73:1001–1008.

Delgadillo JA, Flores JA, Hernández H, Poindron P, Keller M, Fitz-Rodríguez G, Duarte G, Vielma J, Fernández IG, Chemineau P (2015) Sexually active males prevent the display of seasonal anestrus in female goats. **Hormones and Behavior** 69: 8–15.

Dias LMK, Sales JNS, Barro SMBP, Nicolau SS, Simões LMS, Alves MNG, Alonso MA, Valtentim R, Oliveira CA (2018) Although it induces synchronized ovulation, hCG reduces the fertility of Santa Inês ewe submitted to TAI. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 70: 122–130.

Farin CE, Moeller CL, Sawyer HR, Niswender GD (1986) Morphometric Analysis of Cell Types in the Ovine throughout the Estrous Cycle Corpus Luteum. **Biology of Reproduction** 35:1299–1308.

Fatet A, Pellicer-Rubio MT, Leboeuf B (2011) Reproductive cycle of goats. **Animal Reproduction Science**, 124: 211–219.

Fátima LA, Evangelista MC, Silva RS, Cardoso APM, Baruselli PS, Papa PC (2013) Domestic Animal Endocrinology FSH up-regulates angiogenic factors in luteal cells of buffaloes 45: 224–237.

Fonseca JF **Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos Strategies to control the estrous cycle and superovulation in sheep and goats.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/854509/1/AACEstrategiasparaocontrole.pdf>>. Acesso em: 26 nov. 2018.

Fonseca JF, Bruschi JH, Santos ICC, Viana JHM, Magalhães ACM (2005a) Induction of estrus in non-lactating dairy goats with different estrous synchrony protocols. **Animal Reproduction Science** 85:117–124.

Fonseca JF, Bruschi JH, Zambrini FN, Demczuk E, Viana JHM, Palhao MP (2005) Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins. **Animal Reproduction** 2:, n. 1, p. 50–53, 2005b.

Fonseca JF, Souza-Fabjan JMG, Oliveira MEF, Cruz RC, Esteves, LV, Paiva MP, SLM de; FZB.; Mancio AB (2017) Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestagen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. **Reproductive Biology**, n. June.

Fonseca JF, Torres CAA (2005) Administration of hCG 5 days after breeding and reproductive performance in nulliparous dairy goats. **Reproduction in Domestic Animals** 40: 495–499.

Fonseca JF, Torres CAA, Costa EP, Maffili VV, Carvalho GR, Alves NG, Rubert MA (2005c) Progesterone profile and reproductive performance of estrous-induced Alpine goats given hCG five days after breeding. **Animal Reproduction** 2: 54–59.

Gao K, Wang P, Peng J, Xue J, Chen K, Song Y, Wang J, Li G, An X, Cao B (2018) Regulation and function of runt-related transcription factors (RUNX1 and RUNX2) in goat granulosa cells. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, 181: 98–108.



Ginther OJ, Kot K (1994) Follicular Dynamics during the ovulatory season in goats. 42: 987–1001.

Gnanaprakasam MS, Gupta PD; Talwar GP (1976) Ontogenesis, distribution and relative sensitivity of hCG receptors to hCG and LH in goat ovaries. **Molecular and Cellular Endocrinology** 6: 81–90.

Hervé V, Roy F, Bertin J, Guillou F, Maurel MC (2004) Antiequine Chorionic Gonadotropin (eCG) Antibodies Generated in Goats Treated with eCG for the Induction of Ovulation Modulate the Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone Bioactivities of eCG Differently. **Endocrinology** 145: 294–303.

Jiang YF, Hsu MC, Cheng CH, Tsui KH, Chiu CH (2016) Ultrastructural changes of goat corpus luteum during the estrous cycle. **Animal Reproduction Science** 170: 38–50.

Kawate N, Yamazaki M, Tamada H, Inaba T, Sawada T (2002) Effect of Low Dose of hCG on Induction of Fertile Estrus in Shiba Goats Pretreated Intravaginally with Progesterone during the Early Postpartum Nursing Period. **Journal of Reproduction and Development** 48:497–504.

Mcclellan MC, Dieckman MA, Abel JH, Niswender GD (1975) Luteinizing hormone, progesterone and the morphological development of normal and superovulated corpora lutea in sheep. **Cell and tissue research** 164:291–307.

Medan MS, Watanabe G, Sasaki K, Groome NP, Sharawy S, Taya K. (2005) Follicular and hormonal dynamics during the estrous cycle in goats. **The Journal of reproduction and development** 51:455–463.

Medan MS, Watanabe G, Sasaki K, Sharawy S, Groome NP, Taya K (2003) Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids, and inhibin during the estrous cycle in goats. **Biology of reproduction** 69: 57–63.

Meidan R, Levy N, Kisliouk T, Podlovny L, Rusiansky M, Klipper E (2005). The yin and yang of corpus luteum-derived endothelial cells: Balancing life and death. **Domestic Animal Endocrinology**, 29:318–328.

Menchaca A, Miller V, Salveraglio V, Rubianes E (2007) Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the Short-Term Protocol to synchronize ovulation in goats. **Animal Reproduction Science** 102:76–87.

Menchaca A, Rubianes E (2002) Relation between progesterone concentrations during the early luteal phase and follicular dynamics in goat. **Theriogenology** v. 57, p. 1411–1419, 2002.

Miranda-Moura MTM, Fonseca VU, Da Silva NB, Freitas MDL, Almeida OB, Rocha HADO, Papa PDC, Moura CEB (2010) Morphological features and vascularization study of caprine cyclic corpus luteum. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 30:351–357.

Murphy BD (2012) Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. **Animal Reproduction** 9:223–230.

Nogueira DM.; Cavaliere, J.; Gummow, B.; Parker, A. J (2015) Comparison of follicular dynamics and hormone profiles in boer goats examined during the breeding. **Small Ruminant Research** 125: 93–100.

Nogueira É, Nascimento BDS, Costa FLCC, Dias AM, Silva JCB, Ítavo LCV (2014) Pregnancy rate in lactating *Bos indicus* cows subjected to fixed-time artificial insemination and treated with different follicular growth inducers. **Revista Brasileira de Zootecnia** 43: 358–362.

O'shea JD, Cran DG, Hay MF(1980) Fate of the theca interna following ovulation in the ewe. **Cell and tissue research** 210:305–191

O'shea JD, Rodgers RJ, Wright PJ(1984) Morphometric analysis and function in vivo and in vitro of corpora lutea from ewes treated with LHRH during seasonal anoestrus. **Journal Reproduction Fertility** 72: 75–85.

O'shea JD, Rodgers RJ, Wright PJ (1986) Cellular composition of the sheep corpus luteum in the mid - and late luteal phases of the oestrous cycle. **Journal Reproduction Fertility** 76: 685–691.

Okada M, Takeuchi Y, Mori Y **Estradiol-Dependency of Sexual Behavior Manifestation at the Post-LH Surge Period in Ovariectomized Goat** *Journal of Reproduction and Development*. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/44/1/44\\_1\\_53/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/44/1/44_1_53/_pdf)>. Acesso em: 2 dez. 2018.

Ola SI, Egbunike NG. **Behavioural and morphological attributes of oestrus in West African dwarf does under different physiological states**. Disponível em: <<http://www.lrrd.org/lrrd16/10/ola16075.htm>>. Acesso em: 1 dez. 2018.

Oliveira MEF, Cordeiro MF, Ferreura RM, Souza SF, Pieroni JSP, Rodrigues LFS, Fonseca JF, Vicente WRR (2012) Does supplemental LH changes rate and time to ovulation and embryo yield in Santa Ines ewe treated for superovulation with FSH plus eCG? **Ciência Rural** 42:1077–1082.

Oliveira, R. (2010) **Comportamento sexual de cabras Toggenburg durante a estação reprodutiva após luteólise natural ou induzida**. UFMG, Belo Horizonte.

Pandey AK, Ghuman SPS, Dhaliwal GS, Honparkhe M, Phogat JB, Kumar S (2018) Effects of preovulatory follicle size on estradiol concentrations, corpus luteum diameter, progesterone concentrations and subsequent pregnancy rate in buffalo cows (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology** 107:57–62.

Pate JL, Johnson-Larson CJ.; Ottobre JS (2012) Life or death decisions in the corpus luteum. **Reproduction in Domestic Animals** 47:297–303.

Peng J, Xin H, Han P, Gao K, Gao T, Lei Y, Ji S, An X, Cao B (2015a) Expression and regulative function of tissue inhibitor of metalloproteinase 3 in the goat ovary and its role in cultured granulosa cells. **Molecular and Cellular Endocrinology** 412:104–115.

Peng J, Xin H, Han P, Gao K, Gao T, Lei Y, Ji S, An X, Cao B (2015b) Expression and regulative function of tissue inhibitor of metalloproteinase 3 in the goat ovary and its role in cultured granulosa cells. **Molecular and Cellular Endocrinology** 412:104–115.

Peng J Y, Gao KX, Xin HY, Han P, Zhu GQ, Cao BY (2016) Molecular cloning expression analysis, and function of decorin in goat ovarian granulosa cells. **Domestic Animal Endocrinology** 57:108–116.

Pietroski ACCA, Brandão FZ, Souza JMG, Fonseca JF (2013) Short, medium or long-term hormonal treatments for induction of synchronized estrus and ovulation in Saanen goats during the nonbreeding season. **Revista Brasileira de Zootecnia** 42:168–173.

Pugliesi G, Miagawa BT, Paiva YN, França MR, Silva LA, Binelli M (2014) Conceptus-Induced Changes in the Gene Expression of Blood Immune Cells and the Ultrasound-Accessed Luteal Function in Beef Cattle: How Early Can We Detect Pregnancy?1. **Biology of Reproduction** 91:1–12. |

Richards JS, Russell DL, Ochsner S, Hsieh M, Doyle KH, Falender AE, Lo Y K, SHARMA SC (2018) Novel Signaling Pathways That Control Ovarian Follicular Development, Ovulation, and Luteinization 57:195-220.

Richards JS, Russell DL, Robker RL, Dajee M, Alliston TN (1998) Molecular mechanisms of ovulation and luteinization. **Molecular and Cellular Endocrinology** 145: 47–54.

Rigoglio NN, Fátima, L. A.; Hanassaka, J. Y.; Pinto, G. L.; Machado, A. S. D.; Gimenes, L. U.; Baruselli, P. S.; Rennó, F. P.; Moura, C. E. B.; Watanabe, I. S.; Papa, P. C (2013) Equine chorionic gonadotropin alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis. **Theriogenology** 79 673–679.

Robker RL, Richards JS (1998) Hormone-Induced Proliferation and Differentiation of Granulosa Cells: A Coordinated Balance of the Cell Cycle Regulators Cyclin D2 and p27 Kip1 12:924-940.

Romano JE, Alkar A, Amstalden M (2016) Effect of copulation on estrus duration and ovulation time in goats. **Theriogenology** 85:330–334.

Romano JE, Keisler DH, Amstalden M (2018) Effect of copulation on estrus duration, LH response, and ovulation in Boer goats. **Theriogenology** 121: 62–66, 2018.

Rubianes E, Menchaca A (2003) The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. **Animal Reproduction Science** 78: 271–287.

Sá Filho MF, Crespilho AM, Santos JEP, Perry GA, Baruselli PS (2010) Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science** 120: 23–30.

Satterfield MC, Bazer FW, Spencer TE (2006) Progesterone regulation of preimplantation conceptus growth and galectin 15 (LGALS 15) in the ovine uterus. **Biology of Reproduction** 75: 289–296.

Schams D, Berisha B (2004) Regulation of corpus luteum function in cattle--an overview. **Reproduction in Domestic Animals** 39:241–251.

Senger P. L. **Pathways to Pregnancy and Parturition**. 2. ed. [s.l: s.n.]

Siqueira AP, Fonseca JF, Silva Filho JM, Bruschi JH, Viana JHM, Palhares MS, Bruschi MCM, Peixoto MP (2009) Parâmetros reprodutivos de cabras Toggenburg inseminadas com sêmen resfriado, após diluição em meio à base de gema de ovo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 61:299–305.

Smith MF, Mcintosh WE, Smith WG (1994) Mechanisms associated with corpus luteum development. **Journal Animal Science** 72:1857–1872.

Sousa LMMC, Mendes GP, Campos DB, Baruselli OP, Papa C (2016) Equine chorionic gonadotropin modulates the expression of genes related to the structure and function of the bovine corpus luteum. **Plos One** 1–24.

Souza RS, Barbosa LP, Aguiar CS, Figueredo J, Ribeiro M, Mendes CS, Almeida VF, Araújo RCSA, Pinheiro AM, Marques JÁ (2011) Sincronização da ovulação utilizando FSH em substituição à eCG em cabras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 63:753–756.

Spencer TE, Forde N, Lonergan P (2015) The role of progesterone and conceptus derived factors in uterine biology during early pregnancy in ruminants. **Journal Dairy Science** 99: 5941–5950.

Stocco C, Telleria C, Gibori G (2007) The Molecular Control of Corpus Luteum Formation, Function, and Regression. **Endocrine Reviews** 28:117–149.

STOUFFER, R. L. **Physiology of Reproduction**. 3th. ed. [s.l: s.n.]

SUGINO N (2014) Molecular mechanisms of luteinization. **Obstetrics & Gynecology Science** 57:93 - 101.

Tortorella RD, Ferreira R, Santos JT, Neto OSA, Barreta MH, Oliveira JF, Gonçalves PB, Neves JP (2013) The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. **Theriogenology** 79: 1204–1209.

Urrutia-Morales J, Meza-Herrera CA, Escobar-Medina FJ, Gamez-Vazquez HG, Ramirez-Andrade BM, Diaz-Gomez MO, Gonzalez-Bulnes A (2009) Relative roles of photoperiodic and nutritional cues in modulating ovarian activity in goats. **Reproductive Biology** 3:283–94.

Vázquez MI, Blanch MS, Alanis GA, Chaves MA, Gonzalez-Bulnes A (2010) Effects of treatment with a prostaglandin analogue on developmental dynamics and functionality of induced corpora lutea in goats. **Animal Reproduction Science** 118: 42–47.

Vrisman, DP, Bastos NM, Rossi GF, Rodrigues NN, Borges LPB, Taira AR, DE Paz CCP, Nogueira G de P, Teixeira PPM, Monteiro FM, Oliveira MEF (2017) Corpus luteum dynamics after ovulation induction with or without previous exposure to progesterone in prepubertal Nellore heifers. **Theriogenology** 106:60–68.

Wiltbank MC, Salih SM, Atli MO, Luo W, Bormann CL, Ottobre JS, Vezina CM, Mehta V, Diaz FJ, Tsai SJ, Sartori R (2012) Comparison of endocrine and cellular mechanisms regulating the corpus luteum of primates and ruminants. **Animal reproduction / Colegio Brasileiro de Reproducao Animal** 9:242–259.