

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL

FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL DA JUMENTA NORDESTINA

HUMBERTO BORGES MAGALHÃES

BOTUCATU- SÃO PAULO
FEVEREIRO/2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL

FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL DA JUMENTA NORDESTINA

HUMBERTO BORGES MAGALHÃES

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação do curso de Biotecnologia Animal
Orientador: Prof. Dr. José Antônio Dell’Aqua Júnior

BOTUCATU- SÃO PAULO
FEVEREIRO/2019

Nome do autor : Humberto Borges Magalhães

Título: Fisiologia do ciclo estral da jumenta Nordestina

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Antônio Dell’Aqua Júnior

Presidente e Orientador

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária FMVZ - UNESP
- Botucatu /SP

Prof. Dr. Gustavo Henrique Marques Araújo

Membro

Professor Adjunto do curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de
Goiás – UFG – Jataí/GO

Prof. Dr. Igor Frederico Canisso

Membro

Professor do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Animal - UNESP -
Botucatu /SP

Data da defesa: 28 de fevereiro de 2019.

ABREVIATURAS

CL = Corpo lúteo

P4 = Progesterona

FSH = Hormônio folículo estimulante

LH = Hormônio luteinizante

IOI = Intervalo Interovulatório

PGCs = Células Germinativas Primordiais

PGF₂ α = Prostaglandina

PGE₂ = Prostaglandina E2

hcG = Gonadotrofina coriônica Humana

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
CAPÍTULO 1	1
2. OBJETIVOS GERAIS	5
3 REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1. Fisiologia do desenvolvimento folicular	5
3.2. Comportamento sexual	7
3.2.1 Fêmea	7
3.2.2 Macho	8
3.3. Ciclo estral	9
3.3.1. Ondas foliculares	10
3.3.2. Desvio folicular e seleção do folículo dominante	11
3.3.3. Atresia folicular	14
3.3.4. Ovulação	14
3.3.5. Corpo lúteo (CL) e progesterona (P4)	16
3.4. Ultrassonografia	17
REFERÊNCIAS	19
CAPÍTULO 2	32
ARTIGO	30
RESUMO	31
ABSTRACT	33
1. Introdução	35
2. Material e Métodos	36
2.1. <i>Animais e delineamento experimental</i>	37
2.2. <i>Definições dos Parâmetros</i>	39
2.3. <i>Classificação do comportamento sexual</i>	40
2.4. <i>Classificação do edema uterino</i>	40
2.5. <i>Análise das imagens</i>	40
2.6. <i>Análise hormonal</i>	42
2.7. <i>Análise estatística</i>	42

4. Discussão	52
5. Conclusão.....	56
Referências.....	58

RESUMO

MAGALHÃES, H.B. FISILOGIA DO CICLO ESTRAL DA JUMENTA NORDESTINA. Botucatu – SP. 2019. 62p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Com o aumento na produção e na comercialização mundial dos produtos derivados de jumentos, faz-se necessária uma melhor compreensão da espécie. O mercado Chinês, baseado na medicinal tradicional chinesa tem importado asininos do mundo todo, gerando um aumento de 150 % nas importações, abrindo uma novo nicho de mercado mundial. Devido a essa demanda torna se indispensável estudos relacionados com a fisiologia reprodutiva, bem como a correta compreensão dos mecanismos envolvidos na dinâmica ovariana dos asininos, possibilitando assim a utilização de biotecnologias que visam o aumento na eficácia reprodutiva da espécie. A ultrassonografia tem sido amplamente utilizada para o monitoramento dos fenômenos reprodutivos das espécies domésticas, tanto patológicos quanto fisiológico. O corpo lúteo definido como uma glândula transitória, secretora de progesterona e mantenedora da gestação nas espécies monovulatório como asininos e bovinos . O funcionamento fisiológico do corpo lúteo é dependente de uma microvascularização local, que está diretamente relacionada com os níveis séricos de progesterona. Desta maneira, o presente estudo teve como objetivo o monitoramento dos eventos reprodutivos fisiológicos e comportamentais relacionados a dinâmica folicular associada com o acompanhamento da perfusão luteal periférica e sua relação com as concentrações plásmaticas de estrógeno e progesterona ao longo do ciclo .

Palavras-chave: Dinâmica Folicular, Progesterona, Asinino, Corpo Lúteo, estrógeno

ABSTRACT

MAGALHÃES, H.B. Botucatu – SP. 2019. Physiology of estrous cycle in northeastern jennies. Botucatu – SP. 2019. 62p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

With the increase in the production and the worldwide commercialization of the derived products of asses, it makes if necessary a better understanding of the species. The Chinese market, based on traditional Chinese medicine has imported asininos from all over the world, generating a 150% increase in imports, and a billion dollar revenue throughout the year. In this way, it becomes indispensable the studies related to the reproductive physiology, as well as the correct understanding of the mechanisms involved in the ovarian dynamics of the asininos, thus allowing the use of biotechnologies that aim at the increase in the reproductive effectiveness of the species. Ultrasonography has been widely used for the monitoring of reproductive phenomena of domestic species, both pathological and physiological. The corpus luteum defined as a transitory gland, secreting progesterone and maintaining gestation. The physiological functioning of the corpus luteum is dependent on local microvascularisation, which is directly related to serum progesterone levels. In this way, the present study aimed to monitor the physiological and behavioral reproductive events related to ovarian dynamics associated with the monitoring of percutaneous luteal perfusion and its relation with estrogen and progesterone concentrations throughout the cycle.

Keywords: Ovarian dynamic, Progesterone, Asinine, Transiente gland, estradiol.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Estima-se que o rebanho mundial de jumentos seja de 44 milhões de animais (DOMESTIC ANIMAL DIVERSITY INFORMATION SYSTEM, 2016), sendo que algumas raças já se apresentam extintas e outras em eminência de extinção. Na África, os asininos são dificilmente encontrados, apesar de ser o berço de origem de todas as raças de jumentos espalhadas pelo mundo (ZEWDIE et al., 2015). No Brasil, a população de jumentos vem reduzindo nas últimas décadas (ALMEIDA, 2009), de 1.239 milhões em 2001 para 900 mil cabeças em 2017 segundo dados do IBGE (IBGE, 2017).

Apesar disso a equideocultura Brasileira exerce um importante papel na geração de empregos e renda, com destaque internacional, apresentando um rebanho aproximado de 8,1 milhões de equídeos, gerando uma receita de 7,5 bilhões de reais por ano, movimentando o setor gerador de empregos, com quase 500 mil pessoas envolvidas direta ou indiretamente com a indústria equestre (CANISSO, 2008; ALVARENGA, 2002). Com base nesse contexto, houve um aumento expressivo na criação de equinos, muares e asininos. A raça de jumentos Pegã, genuinamente brasileira e com mais de 200 anos de seleção, ocupa um lugar de destaque na criação de asininos, devido a grande valorização de seus híbridos, selecionados principalmente para a modalidade sela, sendo realizados 12 concursos oficiais de marcha por ano com a participação aproximada de 1,5 mil animais, batendo recordes de público e preço em exposições, concursos e leilões. (ABPMEM, 2016; CANISSO, 2008).

O rebanho europeu de asininos está diminuindo significativamente devido a modernização da força de trabalho no campo, entretanto novos interesses econômicos na criação de asininos estão surgindo, baseado na produção de leite e seus derivados, principalmente na produção de leite para pessoas com alergia ao leite de vaca; produtos para indústria de cosméticos; produção de carnes, recreação e atividades turísticas. Dessa maneira, considerando a importância em manter a biodiversidade e a preservação dos recursos genéticos das espécies domésticas, faz-se necessário a criação de um banco genético da espécie. (BALLESTRA et al., 2005; TESSE et al., 2009; MARTEMUCCI et al., 2012).

Da totalidade de asininos existentes ao redor do mundo, 14% estão na China, devido as grandes fazendas de criações de jumentos voltadas para a

produção de leite e comercialização da pele e carne dos animais. O aumento no consumo do "eijao", uma gelatina produzida a partir da pele do jumento, utilizada na medicina tradicional chinesa, fez com que o mercado asiático aumentasse a demanda na produção e a importação dos animais, crescendo quase 150% entre 2013 e 2015, produzindo cerca de 5 mil toneladas de "eijao" ano, passando de 240 reais em 2010 para 1.250 reais, por pele de jumento, atualmente (Macarena, 2016)

Dessa forma, uma melhor compreensão da fisiologia reprodutiva dos asininos, visando a aplicação eficiente das técnicas reprodutivas nos programas de gerenciamento e controle populacional da espécie vem ganhando cada vez mais força no âmbito das pesquisas, devido ao risco eminente de extinção da espécie (LOPES et al., 2017).

Ainda há uma escassez na literatura científica referente as características reprodutivas da espécie, porém alguns estudos relacionados aos aspectos fisiológicos como o comportamento sexual associado as mudanças foliculares e gonadotróficas durante o estro (GODELIEVE et al., 1981, TABERNER et al., 2008, DURAN et al., 2017) duração do ciclo estral (BOETA, 2008, QUARESMA et al., 2015) e características gestacionais (PUGH, 2002) já foram identificadas.

A determinação do crescimento folicular, assim como a compreensão dos seus mecanismos reguladores são instrumentos de grande valia na manipulação artificial da função ovariana. O uso do diagnóstico ultrassonográfico auxilia na caracterização das mudanças ovarianas e tem revolucionado o diagnóstico reprodutivo em todas as espécies, através do monitoramento dos eventos reprodutivos sendo esses tanto patológicos quanto biológicos, com uma aplicação clínica e científica bem difundida (LEMMMA et al., 2006; GINTHER, 1995).

O fenômeno de crescimento e regressão dos folículos antrais em ondas durante o ciclo estral, representa macroscopicamente o sistema mais dinâmico, em constante transformação do corpo das espécies monovulatórias. A seleção folicular, caracterizada pela capacidade do folículo em tornar-se dominante, tem despertado interesse em cientistas desde a década de 60 e ainda se mostra como um dos mais fascinantes mistérios na biologia reprodutiva das espécies monovulatórias (GINTHER et al., 2004).

Nas últimas décadas várias pesquisas foram realizadas visando uma melhor caracterização da dinâmica folicular ovariana e algumas vias de funcionamento dos hormônios reprodutivos em diferentes raças de jumentos (GALISTEO et al., 2010; KEBEDE et al., 2012). O correto entendimento da relação entre a duração do ciclo estral, os eventos ovarianos básicos e o fluxo sanguíneo luteal pode se tornar uma importante ferramenta na manipulação do ciclo estral, aumentando assim a eficiência reprodutiva da espécie (JACOB et al., 2009).

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o crescimento e desvio dos folículos; ovulação; intervalo inter-ovulatório; influência do fluxo sanguíneo luteal; ecogenicidade e tamanho do corpo lúteo; níveis séricos de progesterona e estradiol.

2. OBJETIVOS GERAIS

O presente estudo teve por objetivo avaliar a dinâmica folicular ovariana em jumentas durante o ciclo estral por meio da ultra-sonografia modo B e fluxo sanguíneo luteal por modo doppler. Dessa maneira, foram avaliados os seguintes parâmetros em um único ciclo estral de nove animais:

- a) Evidenciar a ocorrência do número de ondas foliculares
- b) Averiguar a duração do intervalo inter-ovulatório
- c) Avaliar a taxa de crescimento do folículo dominante antes e após o desvio folicular, crescimento dos folículos subordinados antes do desvio e a taxa de atresia após o desvio.
- d) Determinar o dia do desvio folicular
- e) Avaliar a duração da fase folicular e da fase luteal
- f) Dosar a concentração plasmática da progesterona e correlaciona-lá com o diâmetro do corpo lúteo e fluxo sanguíneo luteal durante o diestro
- g) Dosar a concentração plasmática de estradiol e correlacionou com o ciclo estral

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Fisiologia do desenvolvimento folicular

A unidade funcional da gônada feminina é o folículo ovariano, um sistema fisiológico complexo, cuja as estruturas e funções estão interligadas com fatores neuroendócrinos e uma rede de interações intrafoliculares (HAFEZ e HAFEZ, 2000; LANDIM e PRESTES, 2017) que são responsáveis pela esteroidogênese e gametogênese do indivíduo. O reservatório de gametas durante toda a vida reprodutiva da fêmea mamífera é derivado de um número definitivo de células germinativas primordiais (PGCs) de origem embrionária (GOUDET et al., 1998).

As PGCs, quando formadas, migram do epitélio do saco vitelínico, para a crista genital, colonizando a gônada feminina, ainda indiferenciada. Uma vez estabelecidas no ovário primitivo, ainda em desenvolvimento, as PGCs em proliferação, em processo de mitose, passam a ser denominadas oogônias (PICTON, 2000). A população de oogônias se expandem até atingirem um

número espécie-específico predeterminado, iniciando assim a fase meiótica, se tornando oócitos. Os oócitos primários iniciam a fase de divisão meiótica, permanecendo na fase de dictióteno da prófase I até a puberdade, conhecida como fase de repouso meiótico, e caracterizada pela inabilidade de sofrer fertilização, em que os núcleos permanecem em um momento de imaturidade, conhecido como vesícula germinativa (GV) (PICTON, 2000; LANDIM e PRESTES, 2017).

O início da foliculogênese coincide com a primeira divisão meiótica. O ovário fetal sofre uma colonização massiva das células mesonéfricas, as quais se tornarão fonte precursora das células foliculares. Durante este processo os oócitos estacionários (repouso meiótico) são envolvidos por uma fina camada de células achatadas, derivadas de células tronco embrionárias, denominadas células da camada pré granulosa, formando assim, o folículo primordial (BYSKOV et al.,1998).

Portanto, a foliculogênese é definida como o processo de formação, crescimento e maturação folicular. Inicia-se com o desenvolvimento das oogônias e a constituição do folículo primordial, resultando na forma final do folículo, denominado de folículo antral (PICTON, 2000; MONNIAUX et al., 1997).

Os folículos de acordo com suas características morfogênicas podem ser classificados em pré-antrais, não apresentam cavidade antral e são subdivididos em folículos primordiais, folículos primários e folículos secundários. Os folículos antrais, que contém uma cavidade ou antro, repleta de fluido folicular, compreende os folículos terciários e os folículos De Graaf ou pré ovulatórios (FORTUNE, 1994; HULSHOF, 1995; LANDIM e PRESTES, 2017).

Os folículos primordiais encontram-se em estado de quiescência, são envoltos por um ambiente extrafolicular complexo, intimamente ligados a cascata de eventos que ocorre durante a foliculogênese. Internamente são formados por um oócito primário, circundado por uma única camada de célula da pré granulosa, de formato achatado, porém os mecanismos reguladores e ativadores do seu desenvolvimento ainda não estão completamente esclarecidos.

Portanto, acumulam-se evidências de que o início e o crescimento do

folículo primordial seja coordenado por um sistema complexo de expressão de fatores reguladores autócrinos e parácrinos (HULSHOF, 1995; JUENGEL, 2002)

Os folículos primários e secundários são considerados folículos em estágio inicial de crescimento, apresentando em sua morfologia, células da granulosa, de formato cuboide, e uma zona pelúcida em formação, representando a fase de crescimento do folículo, conferindo ao oócito a capacidade de reiniciar a meiose (LANDIM e PRESTES, 2017)

Na fase de maturação final, caracterizada pelo restabelecimento da meiose, ocorre o início da condensação dos cromossomos e o rompimento da GV e redução do número de cromossomos, formação e eliminação do primeiro corpúsculo polar. Após este processo, os cromossomos dos oócitos entram na segunda fase da meiose, metáfase II, que sob ação dos hormônios do eixo hipotalâmico-hipofisário gonadal, alguns fatores promotores de maturação (MFP) e ativadores mitogênicos (MAPK), conferem ao oócito a capacidade de ser fertilizado (GOUDET et al., 1998).

3.2. Comportamento sexual

3.2.1 Fêmea

Uma das particularidades das jumentas é o seu comportamento característico em relação ao cio. Nesta fase receptiva, a fêmea apresenta movimento de abrir e fechar a boca, denominado vulgarmente de “mastigação”, ou simplesmente manter a boca aberta, assim como, mantém a justaposição do pavilhão auditivo junto ao pescoço, além de aceitar a monta de outras fêmeas da mesma espécie (MEIRA et al., 1995).

Algumas características comportamentais dos asininos retratam sua ambivalência, como realizar um movimento rápido para frente a poucos passos de distância do macho, seguido por uma abertura do quadrilátero posterior, estagnação no aguardo da monta, dupla elevação abrupta da pelve, remanescência de escoiceamento, e um leve balançando da cauda e quadril (HENRY et al., 1987; HENRY et al., 1998)

O ato de elevar a extremidade da cauda (na espécie equina, chamado

de cauda em bandeira) e a realização esporádica da eversão dos lábios vulvares, são considerados sinais adicionais, e se apresentam de forma mais discreta nas jumentas (HENRY et al.,1991). Os sinais de estro podem acontecer simultaneamente e/ou individualmente durante o momento do cortejo, culminando na cópula. O comportamento chave entre período transicional de rejeição a monta, retratado pelo aspecto não receptivo da fêmea ao macho, se dá pela não aceitação da monta (MCDONNELL, 1998).

Durante sua fase sexualmente ativa, as jumentas tendem a formar grupos sexualmente ativos, aos quais apresentam características singulares da espécie, rememorativo do comportamento das fêmeas bovinas . As fêmeas se agrupam no mesmo território, em volta do macho em repouso, realizando vocalizações frequentes, expressando comportamento sexual heterotípico e homotípico, atraindo a atenção do reprodutor. De maneira que, como prenunciado, o macho inicie o cortejo e a cópula com a fêmea sexualmente ativa, não obstante, o restante das jumentas receptivas sexualmente continuam em constante agitação, se agrupando ao lado da jumenta a ser “coberta”, realizando uma interação sexual entre as fêmeas do grupo (MCDONNELL, 1998).

3.2.2 Macho

Apesar da similaridade com os equinos, os asininos apresentam particularidades singulares, como a sua organização social, definida como territorial e muito bem expressada pelos machos reprodutores dominantes. Diferentemente do garanhão, o jumento expressa toda a sua soberania frente a fêmea em estágio de receptividade sexual, afastando os machos subordinados do rebanho, por uma distância de até 2.5 km da fêmea, sendo o dominante, o único a realizar o cortejo sexual pré cópula (MOEHLMAN, 1998; HENRY et al., 2009)

O cortejo sexual se inicia com a vocalização do macho, com intuito de atrair as fêmeas em estágio inicial de receptividade sexual para perto do macho. Após a aproximação da fêmea, inicia-se o cortejo sexual, que pode levar mais de meia hora. A abordagem do reprodutor é feita pela frente da fêmea , utilizando a olfação sequencial, iniciando se no pescoço e estendendo-

se até a região perineal da jumenta, podendo ou não ser associada a mordidas por todo o corpo e precedido pela captação de estímulos feromônios com o reflexo de “flehmen”, culminando na cópula (MCDONNELL, 1998, HENRY et al., 2009, KELLER et al., 2009).

O fato dos jumentos serem territoriais, em sua organização social e não em forma de harém, como nos equinos, faz com que seja necessário lançar mão de algumas técnicas para que se obtenha sucesso na monta e conseqüentemente ejaculação do macho. O fator ambiência, tais como: lugar de coleta ou monta, presença de ruídos externos (presença de outro macho) e contato sempre com o mesmo condutor do animal, é de suma importância, diminuindo o período de latência entre a completa ereção peniana do macho e a monta, seja ela no manequim ou na fêmea, otimizando o sucesso na colheita de sêmen ou cópula (CANISSO et al, 2009).

3.3. Ciclo estral

A puberdade nos asininos ocorre entre os 8 e 24 meses de idades, associados a alguns fatores como raça e estado nutricional, a duração do ciclo estral varia entre 20 e 40 dias (24 ± 1 dia), sendo a duração do ciclo da égua entre 21 a 22 dias (21 ± 1 dia) (TABERNER et al., 2008; MCKINNON, 1993)

O ciclo estral nos asininos, assim como nos equídeos, é dividido em duas fases: Fase de desenvolvimento folicular ou fase estrogênica e fase luteínica ou progesterônica. Evidencia-se a fase de desenvolvimento folicular pela receptividade ao jumento, denominada de estro ou cio. O período estral da espécie tem duração média entre 6 a 9 dias (MIRAGAYA et al., 2017), corroborando com os achados de Vandeplassche et al. (1981) e Quaresma e Carreira (2014), que obtiveram resultados de 6,4 dias e 6,65 dias de duração do período estrogênico, respectivamente. Ademais, a ovulação ocorre entre 5 a 6 dias após o início do estro (PUGH, 2002).

A fase luteal é caracterizada pelo período de rejeição ao macho, com a presença de manifestações similares a espécie equina, como abaixar a cauda entre as pernas movimentar-se, escoicear para evitar a proximidade do macho e a não aceitação da monta (MCKINNON et al., 1993; MEIRA et al., 1995).

O período luteal tem duração média de 17.95 ± 2.04 dias (MEIRA et al.,

1995), podendo haver uma variabilidade, associada a sazonalidade (MIRAGAYA et al; 2017) e a raça, como demonstrado por Taberner et al (2008), cujo o diestro teve duração média de ± 20 dias.

3.3.1. Ondas foliculares

A atividade ovariana em éguas, pode não se comportar de forma homogênea, fatores como: interferência racial, individualidade e estacionalidade podem alterar o número de animais que apresentam uma onda de crescimento folicular maior, emergindo na metade do diestro e culminando em ovulação durante o estro (GINTHER, 2000)

Na espécie equina há dois tipos de ondas descritas: ondas maiores, caracterizadas pela formação de um folículo dominante e folículos subordinados; e ondas menores, nas quais o maior folículo não atinge o diâmetro de dominância, não havendo divergência folicular. De acordo com esta classificação, as ondas maiores dividem-se em primárias, caracterizadas pela emergência durante a fase intermediária do diestro e resultando em ovulação no final no estro seguinte, e secundária aquelas que emergem no final do estro ou início do diestro dando origem a um folículo dominante anovulatório ou, mais raramente, a uma ovulação durante o diestro (GINTHER, 1992; BURATINI, 1997).

Raças como o Puro Sangue Inglês, tendem a apresentar ciclos com duas ondas foliculares, sendo a segunda onda denominada onda folicular secundária, podendo culminar em ovulação (ovulação de diestro) ou mais frequentemente, originar um folículo dominante anovulatório (GINTHER, 2000). Quando avaliado o efeito da sazonalidade na atividade ovariana, 40% dos ciclos avaliados apresentaram duas ondas foliculares maiores na primavera, já no outono apenas uma onda folicular maior foi detectada (GINTHER, 1993).

A influência da sazonalidade sobre os asininos ainda é motivo de estudos, porém, quando comparado as éguas, a concentração de melatonina das jumentas é consideravelmente maior (90 ng/mL) do que na égua (24 ng/mL), sugerindo que estas provenham de determinantes genéticos (GUILLAME et. al., 2006).

Em estudos realizados por Henry e colaboradores (1987) observou-se uma fase de anestro sazonal em 40% dos animais, e o intervalo inter-ovulatório

no começo e no fim da estação ($25,9 \pm 2,7$ dias) foi maior do que no verão. A duração do diestro ($18,2 \pm 2,3$ dias) não sofreu variação da sazonalidade, esses achados corroboram com Galisteo e Perez-Marin (2010) que reportaram um aumento no intervalo inter-ovulatório entre novembro e maio de 24.6 para 17.6 dias.

Segundo GINTHER (1993) a emergência da onda primária na égua ocorre entre 3 a 14 ($7,4 \pm 0,5$ mm) dias após a ovulação (D0 = ovulação), quando os folículos estão com $12,1 \pm 0,5$ mm de diâmetro, apresentando correlação positiva com a duração do intervalo inter-ovulatório. Apenas 23% das éguas apresentaram ondas secundárias, com maior ocorrência durante a primavera.

Nos asininos, há um “pool” de desenvolvimento folicular de 11 a 20 mm durante o período pós-ovulação e foi constante até o quinto dia do diestro, precedido de uma diminuição gradativa da população folicular. Já o grupo de folículos maiores com diâmetro entre 11 a 20 mm, iniciaram seu crescimento nos períodos entre o sétimo e oitavo dia da fase luteal, atingindo valores máximos no dia 17 do ciclo, concomitante com a fase final do diestro, mostrando que a atividade de folículos maiores que 10 mm iniciou-se na metade do diestro (MEIRA et al., 1995).

O aumento da concentração de FSH acontece no início da onda folicular, por volta de quatro dias após a ovulação, e se mantém alta até que o folículo dominante atinja 30 mm de diâmetro, havendo, dessa forma, um aumento na liberação de 17β estradiol e inibina A, os quais suprimem a liberação do FSH (MEDAN et al., 2004).

A partir da formação do antro folicular, os folículos tornam-se dependentes de mecanismos reguladores que estimulam seu crescimento e desenvolvimento, como tais, estão as gonadotrofinas que estimulam o seu desenvolvimento, demonstrado pela expressão de receptores de FSH pelas células da granulosa e receptores de LH pelas células da teca (WEBB et al., 1999).

3.3.2. Desvio folicular e seleção do folículo dominante

A terminologia, seleção folicular, utilizado para espécies monovulatórias,

faz referência a habilidade de apenas um folículo adquirir a condição de dominante, o qual cresce rapidamente e culmina na ovulação (WILTBANK et al., 2000; FORTUNE et al., 2001; GINTHER, 2001; GINTHER et al., 2000). Em média o diâmetro dos folículos no momento da emergência da onda e início do desvio são de 6 mm e 19-11 mm (6,2 dias após emergência), respectivamente (GINTHER, 2000).

Evidências de estudos reprodutivos em várias espécies, evidenciam que o estágio inicial do crescimento folicular ocorre de forma lenta, entretanto, após a formação do antro essa velocidade é aumentada consideravelmente, mudança essa, que pode ser observada após a fase de desvio folicular. Há uma relação espécie-específico entre o número de folículos selecionados para a dominância bem como o momento do surgimento folicular, que em primatas e ratos ocorre apenas durante a fase folicular, culminando em ovulação, o que já não se evidencia em bovinos e equinos, podendo as fases de recrutamento, seleção e dominância ocorrer em intervalos regulares. Esses fenômenos de seleção e crescimento folicular estão intimamente relacionados com um aumento da secreção de FSH bem como na habilidade das células tecais de produzirem andrógenos e na eficiência na conversão desses andrógenos em estrógenos pelas células da granulosa (FORTUNE, 1994).

Resultados encontrados por GINTHER et al (2005), cuja a concentração intrafolicular de inibina-A, ativina-A e estradiol aumentam de forma significativa no folículo dominante pós desvio, reforçam a hipótese em que há a resposta mais expressiva do folículo dominante em relação aos estímulos neuroendócrinos.

O processo de desvio folicular se inicia em média 1 dia antes da divergência de diâmetro entre os folículos. Ocorre uma mudança na ecotextura da parede folicular, indicando mudanças estruturais, associado com uma elevação no fluxo sanguíneo no futuro folículo dominante, aumento na concentração sistêmica de estradiol e LH a presença de maiores concentrações de fatores intrafoliculares e o aumento de receptores localizados nas células da teca para o LH (GINTHER, 2017).

A fim de compreender melhor o fenômeno de seleção folicular em éguas e suas mudanças hormonais, desenvolveu-se um modelo com dois folículos.

Foi realizada ablação (aspiração) de todos os folículos ≥ 6 mm no dia 10 (dia 0 = ovulação), com o intuito de facilitar o acompanhamento dos dois maiores folículos da nova onda ou pós-ablação por meio de ultrassonografia. A emergência do futuro folículo se deu com 6 mm de diâmetro, em média um dia mais cedo que o futuro folículo subordinado. Dessa forma, observou-se uma fase de crescimento comum, na qual os dois folículos cresceram de forma similar até o maior folículo atingir 21-23 mm, em média seis dias após a emergência do futuro folículo dominante. Em seguida, houve uma mudança nas taxas de crescimento dos dois folículos, de modo que o folículo maior tornou-se dominante e continuou a crescer, enquanto o outro folículo tornou-se subordinado e entrou em atresia. (GASTAL et al., 1997; GINTHER, 2000; 2001)

No modelo experimental de dois folículos, as concentrações de FSH aumentam depois que o folículo maior atinge 6mm (emergência), atingindo os níveis máximos de concentração três dias depois, quando o folículo atinge um diâmetro de 13 mm, caindo a níveis basais próximo ao momento do desvio. Com base nessas informações e nas mudanças nas taxas de crescimento entre os dois folículos, foi denominado o fenômeno conhecido como desvio folicular. Esses achados indicaram que o futuro folículo dominante apresenta uma vantagem no diâmetro em relação ao segundo maior folículo, sendo o primeiro a atingir um tamanho crítico para que ocorra o início da expressão da sua dominância (GASTAL et al., 1997; 1999).

Até o momento do pico de FSH, que está relacionado com a queda nas concentrações de progesterona (P4), o FSH e LH estão interligados, e iniciam sua dissociação no momento do desvio, caracterizado pelo aumento nas concentrações de LH e um declínio no FSH (GINTHER, 2000; 2001). Esses achados corroboram com os resultados de GASTAL et. al, (1999) que estudou os efeitos de diferentes doses de P4 nas concentrações de LH e FSH, avaliando o mecanismo de funcionamento dos hormônios gonadotróficos e sua influência nas taxas de crescimento dos dois folículos maiores, durante o estabelecimento da dominância folicular.

Estudos indicam que os picos nas concentrações de FSH e LH são mais sincronizados durante a fase luteal do que na fase folicular em éguas. A alta frequência nos pulsos de LH está relacionada com a fase de crescimento do folículo dominante, sendo temporariamente associada ao desvio da onda.

(WATSON et al., 2000; GINTHER et al., 2001; GINTHER et al., 2002).

3.3.3. Atresia folicular

Após o desvio folicular, nas espécies monovulatórias, 99% dos folículos subordinados iniciam um processo de regressão no seu diâmetro, chamado de atresia folicular. Apenas um folículo, recrutado da vasta população folicular de células primordiais, chegará a ovulação. O fenômeno de atresia é geralmente considerada um processo irreversível, que ocorre por morte celular ou apoptose (WEBB et al., 1999).

Um estudo feito por GASTAL e colaboradores (1999), utilizando a técnica de ablação folicular e o modelo de dois folículos, demonstraram que o folículo dominante, depois da divergência, inicia a secreção de altas concentrações de hormônios supressivos de FSH, o tornando insuficiente para a manutenção do contínuo crescimento dos folículos subordinados.

3.3.4. Ovulação

A partir do início do desvio folicular os folículos dominantes começam a crescer rapidamente (PIERSON e GINTHER, 1987), a taxa de crescimento do folículo dominante é de aproximadamente de 3 mm por dia em éguas, pós desvio (GINTHER et al., 2004), resultado semelhante ao encontrado por DERAR e HUSSEIN (2011) de 2,3 mm por dia, em jumentas.

MEIRA e colaboradores (1995) observaram que o diâmetro do folículo dominante em jumentas, detectado entre o dia 20 (D20) até a ovulação (D24), foi superior a 30 mm, atingindo um diâmetro máximo de 36,7mm em média (36-41mm). No entanto, foram encontrados resultados divergentes, de de 44,9 mm \pm 0,5 mm, 44 mm em jumentas espanholas, entre 30 e 33 mm para jumentas da raça Poitou e de 32 mm para animais do norte africano, mostrando uma extensa variabilidade fisiológica no diâmetro do folículo pré ovulatório (TABERNER et al., 2008; MIRAGAYA et al., 2017).

Os fatores que antecedem o momento ovulatório estão relacionados com mudanças nas concentrações de estrógenos, andrógenos e inibina, dentro do fluído folicular. Com relação ao aspecto molecular, houve um aumento significativo de receptores de LH pelas células da teca, aumentando a responsividade do folículo ao LH pituitário (WEBB et al., 1999)

Observou-se a ocorrência de ovulações duplas nos asininos. Segundo TABERNER et al., (2008), há incidência de ovulações simples, duplas e triplas foram respectivamente: 55,66%, 42,45% e 1,89%, porém MEIRA e colaboradores (1995) observaram quatro ovulações duplas (20%) em vinte ciclos estrais estudados.

Aproximadamente 50% das ovulações duplas em equinos são sincrônicas (MCKINNON et al.,1993). Resultado também observado por Ginther e Bergfelt (1992) demonstrando que 55% das ovulações duplas são simultâneas, isto é, ocorrem ao mesmo tempo, 33% em 24 horas, 9% em 48h e 3% em até 62 horas A média de tempo entre as ovulações encontrada em um estudo com asininos foi de $1,44 \pm 3,98$ dias (TABERNER et al., 2008), resultados que se assemelham com os encontrados por QUARESMA et.al. (2015), o qual estudou 33 ciclos estrais da raça jumenta de Miranda, obtendo 57,58% (n = 19) de ovulações simples e 42,42% (n= 14) de múltiplas ovulações, nas quais 12 (36,36%) foram duplas, e 2 (6,06%) foram triplas ovulações. Das 14 ovulações múltiplas (12 duplas e 2 triplas), 7 foram sincrônicas, em um intervalo menor do que 24 horas entre as duas, o restante ocorreu em um intervalo médio de 47,7 7,8 horas (41,8 7,85 para dupla ovulações e 59,4 17,9 para triplas ovulações).

Quando comparado o diâmetro médio dos folículos pré ovulatórios nos asininos, entre as ovulações simples e duplas, observou se um maior diâmetro do folículo ovulatório nas ovulações simples ($40,20 \pm 1,41$ mm) em relação as múltiplas ovulações, $36,70 \pm 0,86$ e $38,60 \pm 2,39$ mm, duplas e triplas, respectivamente (QUARESMA et al., 2015).

Uma das hipóteses para a diminuição no diâmetro dos folículos pré ovulatórios nas múltiplas ovulações, é o aumento do nível circulante de inibina, resultando na inibição da liberação de FSH, limitando a obtenção do diâmetro máximo folicular. O crescimento contínuo do maior folículo dominante até o momento do desvio do segundo dominante, é sugestivo de uma produção parcial de fator de crescimento de insulina 1 (IGF 1), que exerce um papel de sensibilização das células tecais, aumentando sua responsividade ao FSH circulante no segundo maior folículo no momento do desvio, esse fenômeno parece ocorrer em associação com o desenvolvimento parcial do segundo

dominante no momento da divergência do primeiro folículo dominante (GINTHER, 2017).

Entretanto, a relação entre o diâmetro dos folículos pré-ovulatórios e o menor sincronismo entre as múltiplas ovulações, pode ser consequência de uma alteração vascular local, ou seja, um menor aporte sanguíneo entre os folículos, do ponto de vista morfológico, levando a uma diminuição na exposição ao LH circulatório nos folículos menores em relação aos folículos maiores (GINTHER e BERGFELT, 1992).

3.3.5. Corpo lúteo (CL) e progesterona (P4)

O aumento gradativo na concentração sistêmica de LH durante o estro, culmina na ovulação. Após a ruptura do folículo há uma hemorragia intrafolicular levando a formação do corpo hemorrágico. A luteinização das células da teca e da granulosa caracterizam a formação do corpo lúteo, cuja a função é a síntese de P4, iniciando o período luteal (HAFEZ e HAFEZ, 2000).

O CL é uma glândula transitória que se desenvolve a partir das células foliculares remanescentes da ovulação. Os primeiros estudos descritivos do CL foram realizados por Regnier de Graaf (1641-1673), que nomeou a glândula de “glóbulos” (JOCELYN e SETCHEL, 1972). A terminologia CL só foi introduzida em 1681, por Marcello Malpighi (MALPIGHI, 1685). Entretanto, o correto entendimento de sua função fisiológica só foi estabelecido em 1910, por um pesquisador chamado Ludwig Fraenkel, que acasalou 400 coelhos, realizou ovariectomia e constatou que as gestações não eram mantidas, provando assim a funcionalidade do CL (FRAENKEL, 1901 e 1910).

Os hormônios esteroidais, são produzidos a partir de moléculas de colesterol e são considerados uma importante classe de moléculas reguladoras, sendo sintetizados nos ovários, testículos e adrenal, a partir de estímulos esteroideogênicos, bem como na placenta, durante o período gestacional, como ocorre com a produção de P4 (STOCCO, 2002).

O desenvolvimento do CL e suas funções endócrinas são dependentes do crescimento tecidual e do desenvolvimento de uma microvascularização local, ou seja, a atividade angiogênica do tecido luteal em resposta aos estímulos dos hormônios luteotróficos (LH, PGE2) e a responsividade aos estímulos luteolíticos (PGF2 α) (FERREIRA- DIAS et al., 2006).

O mecanismo regulatório da secreção de P4 pelo CL tem sido estudado por uma variedade de formas diferentes, e seu completo entendimento requer mais estudos. Os chamados hormônios luteotróficos (prolactina, estradiol e LH) são os responsáveis pela estimulação e/ou manutenção da produção de P4 pelo CL (DIAZ et al., 2002)

O termo “hormônio luteotrófico” foi definido por ASTWOOD (1941), que ao trabalhar com fatores purificados derivados da glândula pituitária, observou que estes poderiam manter o CL funcional. Apesar da produção da P4 na maioria das espécies estar intimamente relacionada com a secreção dos hormônios luteotróficos, seu controle não é dependente de um estímulo agudo, como nas outras glândulas endócrinas pituitária dependentes. A P4 parece exercer uma autonomia relativa em sua secreção, fato esse, que mesmo na influência dos hormônios “tróficos”, o CL regride, cessando a produção de P4 (ROTHCHILD, 1981).

Após a ovulação, a concentração de P4 aumenta rapidamente, com o pico entre quinto ou sexto dia do ciclo estral, mantendo um platô até por volta do dia 14 e 15 dias pós-ovulação (HUGHES et al., 1972; NAGY et al., 2004). O CL maduro, na espécie equina, produz de 8 a 10 ng/ml de P4 na fase luteal. Após a lise do CL, o nível de P4 decresce exponencialmente, chegando a 1 ng/ml entre um a dois dias pós luteólise, dessa forma haverá o início de uma nova fase estral (ARRUDA et al., 2001).

Ademais, o diâmetro médio do CL nas jumentas, no primeiro dia pós ovulação é em torno de $28,53 \pm 4,94$ mm, representando 77.7% do tamanho do folículo pré ovulatório. A área do CL diminuiu rapidamente após o 14º dia, acompanhado de uma queda nos níveis séricos de P4 (MEIRA et al., 1995). As concentrações de P4 nas jumentas são mais elevadas do que nas éguas, porém o seu perfil é similar. Assim como na espécie equina, o aumento na concentração de P4 ocorre entre o 1º e 4º dia do diestro, o platô é encontrado entre o 4º e 14º dias pós ovulação (HENRY et al., 1987).

3.4. Ultrassonografia

A utilização da ultrassonografia modo B, na medicina reprodutiva, teve início há 30 anos atrás, possibilitando avaliação morfológica, não invasiva, do CL bovino (KASTELIC et al., 1990).

Em todas as espécies de produção, como bovinos e equinos, a ultrassonografia transretal em escala de cinza, tem sido amplamente utilizada para o estudo da caracterização da dinâmica folicular e na investigação do controle dos hormônios gonadotróficos sobre o desenvolvimento folicular (GINTHER, 2013).

Com os avanços nos estudos e na compreensão da utilização da ultrassonografia, sua aplicação se tornou cada vez mais usual, extrapolando essa ferramenta nas avaliações de outros aspectos reprodutivos das espécies, tais como: a ecotextura endometrial, como um indicador biológico das concentrações circulantes de estradiol, sexagem fetal, por meio da localização relativa do tubérculo genital entre o 50º e 60º dia de gestação, e a duração do esvaziamento folicular durante a ovulação.

Além disso, na espécie equina, foi possível observar a mobilidade embrionária, percorrendo todas as partes do útero entre os dias 11 a 15 pós ovulação, até sua implantação, além de permitir a compreensão do fenômeno chamado de “serrilhamento da granulosa” que ocorre no lado oposto do local de ruptura do folículo pré ovulatório, sendo utilizado como um indicador da proximidade da ovulação (PALMER e DRIANCOURT, 1980; GINTHER, 1995).

A ultrassonografia Doppler, é uma técnica não invasiva em tempo real, amplamente utilizada na avaliação da hemodinâmica do sistema reprodutivo em grandes animais (ROMANO et al., 2015). Na avaliação doppler do fluxo sanguíneo, o objeto estacionário é o transdutor, o qual emite ondas que serão emitidas por um refletor em movimento (vasos sanguíneos), gerando o retorno dos ecos emitidos (GINTHER, 2004).

O método de avaliação Doppler, descrito na medicina humana, foi extrapolado para a aplicação no CL bovino, quantificando seu fluxo sanguíneo (MIYAZAKI et al., 1998; HERZOG et al., 2010). Entretanto os aparelhos de Doppler convencionais, são programados para mensurar vasos com alta vascularização, ou seja, vasos que apresentam uma alta velocidade de fluxo, surgindo a necessidade de uma ferramenta capaz de mensurar com precisão a intensidade do fluxo de vasos de pequenos calibres, a partir disso surgiu o “Power Doppler”. O “Power Doppler”, é um método avançado da ultrassonografia “color Doppler”, que tem a capacidade de detectar o número de células sanguíneas se movendo através dos vasos, mesmo em vasos de

pequeno calibre, representando seus achados em unidade de pixel (LÜTTGENAU e BOLLWEIN, 2014).

A maior sensibilidade do “Power Doppler” em relação ao color Doppler, permite a avaliação de vasos de pequenos calibres ou de baixo fluxo, que não são detectados no modo color convencional (GINTHER, 2004).

Em um estudo em bovinos, realizado por LÜTTGENAU e BOLLWEIN (2014), foi observado que o declínio nos níveis séricos de P4 pode ser previsto com maior confiabilidade quando se avalia o fluxo sanguíneo luteal em relação ao volume luteal, especialmente durante a regressão folicular. Ademais, vacas com baixa concentração de P4 apresentaram também uma menor área de corpo lúteo, porém quando comparado o fluxo luteal com o volume do CL, não houve diferença entre os animais com maiores níveis de progesterona.

Romano e colaboradores (2015), ao utilizar a gonadotrófina coriônica humana (hCG) no intuito de avaliar o efeito de diferentes doses de hCG sob a hemodinâmica e a função secretora do corpo lúteo jovem nos equinos, observaram que a função secretora da glândula e a função luteal não foram alteradas pelas doses e tempos de tratamento. Entretanto, a alta correlação entre a concentração plasmática de P4 e a perfusão vascular luteal, associada com a ausência de mudanças morfológicas relacionadas a área do CL, sugerem que a utilização da ultrassonografia Doppler pode ser mais eficaz, quando comparada a ultrassonografia convencional, para a avaliação da funcionalidade luteal.

REFERÊNCIAS

ADAMS, G.P. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications for synchronization and superstimulation. **Theriogenology**, v.41, p.19-24, 1994.

ALMEIDA, L.D. Genetic Study About Donkeys in Brazil: Genetic Diversity of the Donkey Breeds Created in Brazil, Based on Analysis of Microsatellite Loci and MTDNA. 2009. **Tese de Doutorado. Universidade de Brasília**, Brasília, DF, Brasil.

ARRUDA, R. P., VISINTIN, J. A., FLEURY, J.J., GARCIA, A.R., CELEGHINI, E. C. C., NEVES NETO, J.R. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões equinos. **Brazilian Journal**

ASTWOOD, E.B. The regulation of corpus luteum function by hypophysial luteotrophin. **Endocrinology**, v. 28, p. 309-20, 1941.

ALVARENGA, M.A. Melhoria da resistência espermática à congelação e diminuição das variações entre raças e indivíduos com uso da dimetilformamida para sêmen de garanhões. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade Estadual Paulista, 2002,87p. Tese (Tese de Livre Docência em Reprodução Animal) FMVZ - Universidade Estadual Paulista, 2002.

BALLESTRA F. Process for conservation of donkey milk and its application in the pharmaceutical and cosmetic industry. **French Patent Application**: FR 2 707 877 Al. 6. 2005.

BOETA A. M. Equinos. En: Galina C, Valencia J. **Reproducción de los Animales Domésticos**, , 3° ed. México: Limusa, 2008:403-411

BOLLWEIN, H., MAYER, R., WEBER, F., STOLLA, R. Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. **Theriogenology**, v. 57, p. 2043–51, 2002.

BURATINI, J.J. Avaliação da dinâmica folicular em éguas da raça mangalarga utilizando a ultra-sonografia e as concentrações plasmáticas de progesterona e hormônio luteinizante. Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, p. 1-66, 1997.

CANISSO, I.F. Comportamento sexual, parâmetros seminais e fertilidade do semen congelado de jumentos (*Equus asinus*) da Pêga. Vicosa: Departamento de Zootecnia - Universidade Federal de Vicosa, 2008, 198p. Dissertação

(Mestrado em Zootecnia) DZO - UFV, 2008

CANISSO IF, DAVIES-MOREL M, MCDONNELL SM. Strategies for the management of donkey jacks in intensive breeding systems. **Equine Vet Education** 2009; 21:652-659.

BYSKOV, A. G., BALTSEN, M., ANDERSEN, C. Y. Meiosis-activating sterols: background, discovery, and possible use. **Journal of Molecular Medicine**, v. 76, p. 818–823, 1998.

DERAR, R.I., HUSSEIN, A. Ovarian Follicular Dynamics during the estrous cycle in Jennies in Upper Egypt. **Veterinary Medicine International**, v. 11, p. 1-6, 2011.

DIAZ, F.J., ANDERSON, L.E., WU, Y.L., RABOT, A., TSAI, S.J., WILTBANK, M.C. Regulation of progesterone and prostaglandin F2a production in the CL. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 191, p. 65-80, 2002.

DURAN, D.M., Zarco, L., Boeta, A. M. Ovarian dynamics and oestrous cycle in the donkey (*Equus asinus*). **Theriogenology**, v. 103, p. 1-8, 2017

EVANS, M.J., IRVINE, C.H.G. Serum concentrations of FSH, LH and progesterone during the oestrous cycle and early pregnancy in mare. **Journal Reproductive Fertility**, v. 23, p. 193–200, 1975.

FERREIRA- DIAS, O.G., PINTO-BRAVO, P., MATEUS, L., REDMER, D.A, MEDEIROS J.A. Microvascularization and angiogenic activity of equine corpora lutea throughout the estrous cycle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 30, p. 247–259, 2006.

FERREIRA-DIAS, G., BRAVO, P., MATEUS, L., REDMER, D., MEDEIROS, J. Micro- vascularization and angiogenic activity of equine corpora lutea throughout the estrous cycle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 30, p. 247–59, 2006.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, n. 2, v. 50, p. 225-32, 1994.

FRAENKEL, L. 1901. Experimentelle untersuchungen uber die function des corpus luteum (Theorie von Born). Allg. Med. Central-Ztg. 70, 1209.

FRAENKEL, L. 1910. Neue experiment zur function des corpus luteum. Arch. Gynaek. 91, 705-761.

GALISTEO, J., PEREZ-MARIN, C.C. Factors affecting gestation length and estrus cycle characteristics in Spanish donkey breeds reared in southern Spain. **Theriogenology**, v. 74, p. 443-50, 2010.

GALVÃO, A.M., FERREIRA-DIAS, G., SKARZYNSKI, D.J. Cytokines and angiogen-esis in the corpus luteum. **Mediators Inflammation**, 2013.

GASTAL, E.L., BERGFELT, D.R., NOGUEIRA, G.P., GASTAL, M.O., GINTHER, O.J. Role of luteinizing hormone in follicle deviation based on manipulating progesterone concentration in mares. **Biology of Reproduction**, v. 61, p. 1492–8, 1999.

GASTAL, E.L., GASTAL, M.O., BERGFELT, D.R., GINTHER, O.J. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. **Biology of Reproduction**, v. 57, p. 1320–7, 1997.

GINTHER, O. J. Follicle Selection in Mares: 90 Years from Observation to Theory. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 54, p 24-31, 2017.

GINTHER, O.J. 1995. Ultrasonic imaging and animal reproduction: book 1, fundamentals. Cross Plains, WI: Equiservices.

GINTHER, O.J. Follicle selection in cattle: relationship among growth rate, diameter ranking, and capacity for dominance. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 345-350, 2001.

GINTHER, O.J. Major and minor follicular waves during the equine estrous cycle. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 13, p. 18-25, 1993.

GINTHER, O.J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 61-79, 2000.

GINTHER, O.J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 61-79, 2000.

GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging and animal reproduction, book 2: Horses. Cross Plains (WI): **Equiservices** Publishing; 1995.

GINTHER, O.J., BEG, M.A., GASTAL, M.O., GASTAL E.L. Follicle dynamics and selection in mares. **Animal Reproduction.**, v.1, p.45-63, 2004.

GINTHER, O.J., BERGFELT, D.R. Ultrasonic characterization of follicular waves in mares without maintaining identity of individual follicles. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 12, p. 349-354, 1992.

GINTHER, O.J., MATTHEW, D. Doppler Ultrasound in Equine Reproduction: Principles, Techniques, and Potential. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, p. 516-526, 2004.

GOUDET, G., BELIN, F., BEZARD, J., GERARD, N. Maturation-promoting factor (MFP) and mitogen activated protein Kinase (MAPK) expression in relation to oocyte competence for in vitro maturation in the mare. **Molecular Human Reproduction**, v. 4, p. 563-570, 1998.

GUILLAME, D., ZARAZAGA, L.A., MALPAUX, B., CHEMINEAU, P. Variability of plasma melatonin level in pony mares (*Equus caballus*), comparison with the hybrid: mules and with jennies (*Equus asinus*). **Reproduction Nutrition Development**, v. 46, p. 633-9, 2006.

HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. Functional Anatomy of Reproduction In: Reproduction in Farms Animals, 7° ed., p.1- 68, 2000.

HENRY, M., FIGUEIREDO, A.E., PALHARES, M.S., CORYN, M. Clinical and endocrine aspects of the oestrous cycle in donkeys (*Equus asinus*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 35, p. 297-303, 1987.

HENRY, M., LODI, L.D., GASTAL, M.M.F.O. Sexual behaviour of domesticated donkeys (*Equus asinus*) breeding under controlled or free range management systems. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 60, p. 263-276, 1998.

HENRY, M., MCDONNELL, S., LODI, L.D., GASTAL, E.L. Pasture mating behaviour of donkeys (*Equus asinus*) at natural and induced oestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 44, p. 77-86, 1991.

HENRY, M., OLIVEIRA, M.M.F., DIAZ, A.P., GASTAL, E.L., TOLENTINO, F.T. Comportamento sexual de jumentos no período de cortejo e ato sexual. In: **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, 7, Belo Horizonte, MG. Anais. Belo Horizonte: CBRA, 1987b.

HERZOG, K., BROCKHAN-LÜDEMANN, M., KASKE, M., BEINDORFF, N., PAUL, V., NIEMANN, H. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. **Theriogenology**, v.73. p,691–697,2010.

HULSHOF, S.C.J. Bovine preantral follicles and their development in-vitro. **Utrecht af Veterinary Medicine**, Yalelaan, p.108, 1995.

IBGE - Brazilian Institute for Geographical Statistics, 2016. IBGE | Séries Estatísticas & Séries Históricas [WWW Document]. Efetivo Animais Nos Estabel.

URL.<http://serieestatisticas.ibge.gov.br/series.aspx?no=1&op=0&vcodigo=AGRO120&t=efetivo-animais-estabelecimentos> (Acessado 03 de outubro de 2018).

JACOB, J.C., GASTAL, E.L., GASTAL, M.O., CARVALHO, G.R., BEG, M.A., GINTHER, O.J. Temporal relationships and repeatability of follicle concentrations within individuals in mares. **Reproduction Domestic Animals**, v. 44, p. 92-9, 2009.

JOCELYN, H.D., SETCHEL, B.P. An annotated translation of Regnier deGraaf's new treatise concerning the generative organs of women (1672). **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 17, p. 77-206, 1972.

JUENGEL, J.L., SAWYER, H.R., SMITH, P.R., QUIRKE, L.D., HEATH, D.A., LUN, S., WAKEFIELD, S.J., McNATTY, K.P. Origins of follicular cells and ontogeny of steroidogenesis in ovine fetal ovaries. **Molecular and Cellular endocrinology**, v. 191, p 1-10, 2002.

KASTELIC, J.P., PIERSON, R.A., GINTHER, O.J. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. **Theriogenology**, v. 34, p. 487-98, 1990.

KEBEDE, H., LEMMA, A., NEGUSSIE, H. Ultrasonographic studies on ovarian dynamics and associated estrus manifestations of jennies under controlled management, Ethiopia. **Tropical Animal Health Production**, v. 44, p. 1965-70, 2012.

KELLER M, BAUM MJ, BROCK O. The main and the accessory olfactory system in the control of mate recognition and sexual behavior. **Behav Brain Res**, v.200, p.268-276, 2009.

KUGLER, W., GRUNENFELDER, H.P., BROXHAM, E. Donkey breeds in Europe. **Monitoring Institute for Rare Breeds and Seeds in Europe**, Report 2007-2008.

LANDIM F. C., PRESTES N.C. Fecundação e clivagem. In: Prestes NC, Landim-Alvarenga FC. **Obstetrícia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro:

Guanabara-Koogan, 2017. p.1 – 21.

LEMMA, A., SCHWARTZ, H.J., BEKANA, M. Application of ultrasonography in the study of the reproductive system of tropical jennies (*Equus asinus*). **Tropical animal health production**, n. 4, v. 38, p. 267-274, 2006.

LOPES, K.R.F., LIMA, G.L., BEZERRA, L.G.P., BARRETO-JUNIOR, R.A., OLIVEIRA, M.F., SILVA, A.R. Characterization of the ovarian preantral follicle populations and its correlation with age and nutritional status in Brazilian Northeastern donkeys (*Equus assinus*). **Animal reproduction science**, v. 187, p. 193-202, 2017.

LÜTTGENAU, J., BOLLWEIN H. Evaluation of bovine luteal blood flow by using color Doppler ultrasonography. **Reproductive Biology**, v. 14, p. 103–109, 2014.

MARTEMUCCI G., D'ALESSANDRO AG. Fat content, energy value and fatty acid profile of donkey milk during lactation and implications for human nutrition. **Lipids Health Dis.** 2012; 11: 113. doi: 10.1186/1476- 511X-11-113 PMID: 22963037

MALPIGHI, M. 1685. Praeclarissimo & eruditissimo Viro D. Jacobo sponio Medicinae doctor, & Lugdenensi anatomici Accuatatissimo. **Phil. Trans. Roy. Soc. London**, v. 14, p. 639 -640.

MACARENA, V. China importa milhões de burro para usar na medicina tradicional. Disponível em: <https://brasil.elpais.com/brasil/2016/10/06/economia/1475775231_389146.htm>. Acessado em: 06 de Abril. 2019.

MCDONNELL, M.S. Reproductive behavior of donkeys (*Equus asinus*). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 60, p. 277-282, 1998.

MCKINNON, A.O., VOSS, J. L. **Equine Reproduction**, ed. Williams & Wilkins, 1993, p. 1115.

MEDAN, M.S., NAMBO Y., NAGAMINE N., SHINBO H., WATANABE G., GROOME, N., TAYA, K. Plasma Concentrations of Ir-inhibin, Inhibin A, Inhibin pro-C, FSH, and Estradiol-17 During Estrous Cycle in Mares and Their Relationship with Follicular Growth. **Endocrine**, v. 25, n. 1, p. 7-14, 2004.

MEINECKE, B., GIPS, H., MEINECKETILLMANN, S. Progestagen, androgen and oestrogen levels in plasma and ovarian follicular fluid during the oestrous cycle of the mare. **Animal Reproduction Science**, v. 12, p. 255–65, 1987.

MEIRA, C., FERREIRA, J.C.P., PAPA, F.O., TORNERO, M.T.T., BICUDO, S.D. Study of the cycle in Donkeys (*Equus asinus*) using ultrasonography and plasma progesterone concentrations. **Biology of Reproduction**, v. 1, p. 403-410, 1995.

MIRAGAYA, H. M., NEILD D. M. N., ALONSO A. E. A. A Review of Reproductive Biology and Biotechnologies in Donkeys. **Journal of Equine Veterinary Medicine**, v. 65, p 55-61, 2017.

MIYAMOTO, A., SHIRASUNA, K. Luteolysis in the cow: a novel concept of vasoactive molecules. **Animal Reproduction**, v. 6, p. 47–59, 2009.

MIYAZAKI, T., TANAKA, M., MIYAKOSHI, K., MINEGISHI, K., KASAI, K., YOSHIMURA, Y. Power and colour Doppler ultrasonography for the evaluation of the vasculature of the human corpus luteum. **Human of Reproduction**, v.13, p. 2836–2841, 1998.

MOEHLMAN, P.D. Behavioral patterns and communication in feral asses (*Equus africanus*). **Appl Anim Behav Sci**, v.60, p.125-169, 1998a.

MONNIAUX, D., MONGET, P., BESNARD, N., HUET, C., PISSELET, C. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. **Theriogenology**, v. 47, p. 3-12, 1997.

NAGY, P., HUSZENICZA, GY., REICZIGEL, J., JUHASZ, J., KULCSAR, M., ABAVARY, K., GUILLAUME, D. Factors affecting plasma progesterone concentration and the retrospective determination of time of ovulation in cyclic mares. **Theriogenology**, v. 61, p. 203- 214, 2004.

NISWENDER, G.D., JUENGEL, J.L., SILVA, P.J., ROLLYSON, M.K., MCINTUSH, E.W. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, n. 1, v. 80, p. 1–29, 2000.
of Veterinary Research and Animal Science, v. 38, p. 233-8, 2001.

POLIDORI P, VINCENZETTI S, CAVALLUCCI C, BEGHELLI D. Quality of donkey meat and carcass characteristics. **Meat Sci.** 2008; 80: 1222–1224. doi: 10.1016/j.meatsci.2008.05.027 PMID: 22063861

PALMER, E., DRIANCOURT, M.A. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. **Theriogenology**, v.13, p. 206–16, 1986.

PICTON, H.M. Activation follicle development: the primordial follicle. **Theriogenology**, v. 55, p. 193-210, 2000.

PUGH, D.G. **Donkey reproduction.** American Association of Equine Practitioners, v.48, p 113–114, 2002.

QUARESMA, M., CARREIRA, R. P. Characterization of the estrous cycle of Asinina de Miranda jennies (*Equus asinus*). **Theriogenology**, v. 83, p. 616-624, 2014.

ROMANO, R.M., FERREIRA, J.C., CANESIN, H.S., BOAKARI, Y.L., IGNÁCIO, F. S., FILHO, L.F.N, TROMPSON, J.R. D., MEIRA, C. Characterization of Luteal Blood Flow and Secretion of Progesterone in Mares Treated With Human Chorionic Gonadotropin for Ovulation Induction or During Early Diestrus. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, p. 591–597, 2015.

ROTHSCHILD, I. The regulation of the mammalian corpus luteum. Recent

Progress in Hormone Research, v. 37, p. 183-298, 1981.

SHAH, J. S, SABOUNI. R, VAUGHT. K. C. C, OWEN. C.M, ALBERTINI. D. F, SEGARS. J.H. Biomechanics and mechanical signaling in the ovary: a systematic review. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 35, p. 1135–1148, 2018.

SKARZYNSKI, D.J., FERREIRA-DIAS, G., OKUDA, K. Regulation of luteal function and corpus luteum regression in cows: hormonal control, immune mechanisms and intercellular communication. **Reproduction Domestic Animals**, v. 43, p. 57–65, 2008.

STOCCO, D.M.C. Clinical disorders associated with abnormal cholesterol transport: mutations in the steroidogenic acute regulatory protein. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 191, p. 19-25., 2002.

TIBARY, A., SGHIRI, A., BAKKOURY, M., FITE, C. Reproductive patterns in donkeys. **Proceedings of the 9th International Congress of World Equine Veterinary Association**. Reprinted in IVIS with the permission of the Conference Organizers. <http://www.ivis.org>.

VANDEPLASSCHE, G.M., WESSON, J.A., GINTHER, O.J. Behavioral, follicular and gonadotropin changes during the estrous cycle in donkeys. **Theriogenology**, v. 16, n. 2, p 239-249, 1981.

TESSE R, PAGLIALUNGA C, BRACCIO S, ARMENIO L. Adequacy and tolerance to ass's milk in an Italian cohort of children with cow's milk allergy. **Ital J Pediatr**. 2009; 35: 19.

WATSON, E.D., PEDERSEN, H.G., THOMSON, S.R.M., FRASE, H.M. Control of follicular development and luteal function in the mare: Effects of a GnRH antagonist. **Theriogenology**, v. 545, p. 599- 609, 2000.

WEBB, R., CAMPBELL, B.K., GRVERICK, H.A., GONG, J.G., GUTIERREZ, C.G., ARMSTRONG, D.G. Molecular mechanisms regulating follicular

recruitment and selection. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 54, p. 33-49, 1999.

WILTBANK, M.C., FRICKE, P.M., SANGSRITAVONG, S., SARTORI, R., GINTHER, O.J. Mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1-10, 2000.

ZEWDIE, B., WELDAY, K., PAL, S.K. Conservation of indigenous donkey breeds of Ethiopia: a review. **International Journal of Interdisciplinary and Multidisciplinary Studies**, n. 2, v. 6, p. 13–22, 2015.

CAPÍTULO 2

ARTIGO**PHYSIOLOGY OF BRAZILIAN NORTHEAST JENNIES ESTROUS CYCLE**

Humberto Borges Magalhães^a

^aDepartment of Animal Reproduction and Veterinary Radiology, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, FMVZ, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Botucatu, Brazil

*Corresponding author. Tel.: (+55) 17 99653-7286

E-mail address: humbertobmg@hotmail.com

Artigo redigido segundo as normas da Theriogenology, ISSN 0093-691X, ranqueada como A2 pelo QUALIS – CAPES de 2016. Normas disponíveis no link: <https://www.elsevier.com/journals/theriogenology/0093-691x/guide-for-authors>

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi caracterizar a dinâmica ovariana e associação com o monitoramento luteal periférico relacionando com as concentrações de progesterona e estrógeno. Nove jumentas da raça nordestino brasileiro foram monitoradas diariamente por meio de ultrassonografia em escala de cinza e Power doppler, até completarem 1 ciclo estral, com o objetivo de descrever e caracterizar as vias de crescimento do folículo ovulatório e subordinado, taxa de atresia, duração do intervalo interovulatório, diâmetro máximo e taxa de crescimento do dominante e subordinado pré e pós desvio folicular, momento do desvio, início e duração da fase de estro e luteal, começo da luteólise, ecogenicidade, ecotextura e fluxo sanguíneo luteal. Foi realizado coleta de sangue diária, para a determinação da concentração sérica de progesterona e estrógeno. Os resultados encontrados da duração do intervalo interovulatório foram de $25,00 \pm 1,49$ e $7,00 \pm 1,12$ dias de estro, sendo de $4,50 \pm 0,92$ dias de aceitação de monta. Foi detectado a presença de uma onda folicular secundária em 22,22 % (2/9) dos animais. A média de dias do folículo de 11 mm até o momento do desvio foi de $7,00 \pm 1,12$, e o dia do desvio folicular foi $16 \pm 1,30$, com taxa de crescimento diária e diâmetro máximo do dominante e subordinado de $1,15 \pm 0,19$ mm, $1,12 \pm 0,24$, $21,47 \pm 1,18$ e $21,3 \pm 1,42$, respectivamente. A taxa de atresia do folículo subordinado foi de $-1,37 \pm 0,22$ mm por dia. A taxa de crescimento e o diâmetro máximo do folículo dominante após desvio até a ovulação foi de $1,66 \pm 0,25$ e $33,63 \pm 1,65$. Os parâmetros Doppler no monitoramento da luteólise mostraram uma correlação positiva com as concentrações de progesterona durante o ciclo estral, com uma diminuição da perfusão luteal de 33%, se mostrando uma importante ferramenta no monitoramento da luteólise. Até o nosso conhecimento esse é o único trabalho que descreve a dinâmica folicular, com um monitoramento vascular luteal e hormonal dos asininos durante o ciclo estral.

Palavras-chave: Doppler, fluxo sanguíneo luteal, dinâmica ovariana, intervalo interovulatório, morfoecogenicidade.

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize ovarian dynamics and the association with peripheral luteal monitoring as progesterone and estrogen monitors. Nine Brazilian Northeastern race guides were monitored by gray scale and Power Doppler ultrasound until 1 estral cycle was completed. The purpose of describing and characterizing the ovulatory and subordinate follicle growth pathways, atresia rate, interovulatory interval duration, maximum rate and growth rate of the dominant and subordinate in the follicular post-return, moment of deviation, onset, and duration of the phase growth, onset of luteolysis, echogenicity, echotexture and luteal blood flow. Daily blood probe phase for the determination of the serum concentration of progesterone and estrogen. The results of the interovulatory interval were 25.00 ± 1.49 and 7.00 ± 1.12 estrus days, being 4.50 ± 0.92 days of acceptance. The presence of a secondary follicular wave was detected in 22.22% ($n = 2/9$) of the animals. The mean number of follicle days from 11 mm to the time of expulsion was 7.00 ± 1.12 , and the day of follicular deviation was 16 ± 1.30 , with daily growth rate and maximum diameter of the dominant and subordinate of 1.15 ± 0.19 mm, 1.12 ± 0.24 , 21.47 ± 1.18 and 21.3 ± 1.42 , respectively. The rate of atresia of the subordinate follicle was -1.37 ± 0.22 mm per day. The growth rate and the maximum diameter value of the pre ovulatory follicle were 1.66 ± 0.25 and 33.63 ± 1.65 . The data doppler in the data of luteolysis the objective of the objective of progesterone during the estrous cycle, with a precision the luteal of 33%, is an important tool in monitor luteolysis. This is what has been investigated during the vascular cycle, with the vascular and hormonal monitoring of the asininos during the estrous cycle.

Keywords: Doppler, luteal blood flow, ovarian dynamics, interovulatory interval, morphoecogenicity

1. Introdução

De acordo com o sistema de informações sobre a diversidade dos animais domésticos, em 2016 a população de asininos estava estimada em 44 milhões de animais, distribuídas de maneira heterogênea por todo o mundo, com algumas raças extintas e outras à beira da extinção [1]. Na África, berço das origens, praticamente não se encontra mais os chamados “asininos selvagens”, precursores das linhagens de jumentos espalhadas pelo mundo [2].

No Brasil, a população de jumentos da raça nordestino brasileiro vem diminuindo significativamente nos últimos anos [3], caindo de 1.217 milhões em 2012, para 812 mil cabeças em 2016 [4].

Entretanto, a procura pela obtenção de um animal mais rústico e robusto para o trabalho e o turismo vem alavancando a criação de jumentos para a produção e comercialização de mulas e burros em países como a Argentina e o Brasil. A característica de robustez dos híbridos está diretamente relacionado com a carga genética impressa pelos pais, por isso a seleção adequada de um bom reprodutor é o início de todo o processo [5].

A China é um grande produtor de asininos, porém a sua demanda não é capaz de suprir a produção dos produtos derivados de jumentos, esse desequilíbrio gera um aumento de 23% ano no preço do matéria prima principal utilizada pelos chineses, a pele do jumento, aumentando quase 150 % as importações da pele dos asininos, num período entre 2013 e 2015, fazendo necessário a expansão na criação de asininos ao redor do mundo, para suprir essa carência [6].

Além disso, há poucos estudos relacionados com ciclo estral da jumenta, quando comparado aos estudos com égua. Algumas investigações foram conduzidas nas últimas décadas, avaliando-se o comportamento sexual dos asininos, observando algumas semelhanças e particularidades em relação a espécie equina [7, 8]. Ademais, foi

encontrado diferenças e similaridades na dinâmica folicular em ambas as espécies, como a duração do estro, diestro e intervalo interovulatório [9, 10, 11, 12].

Entretanto devido ao grande interesse econômico e a eminência de extinção de algumas raças de jumentos, os estudos que compreendem o comportamento sexual, a fisiologia do ciclo estral e a ovulação tem se tornado cada vez mais frequentes. Poucas observações foram realizadas em relação as diferenças inter-raciais [12] e o efeito da sazonalidade sobre a duração do ciclo estral nas jumentas [13].

Algumas características como intervalo inter-ovulatório, duração da fase estral e luteal, diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da ovulação, características morfoecogênicas e fluxo sanguíneo do corpo lúteo, assim como, os níveis de progesterona e estrógeno durante o ciclo estral ainda não foram avaliados nas jumentas nordestinas brasileiro.

Dessa maneira, o objetivo desse trabalho foi descrever, caracterizar e relacionar a dinâmica folicular, bem como o crescimento, fluxo sanguíneo e a regressão do corpo lúteo com os níveis de progesterona e estrógeno durante o ciclo estral.

2. Material e Métodos

Este projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) – Campus de Botucatu, São Paulo, sob protocolo CEUA 0159/2018.

O estudo foi realizado entre o início de junho até o início de agosto de 2018, os animais ficaram alojados no Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ - Unesp, campus de Botucatu, São Paulo, Brasil, localizado a 22°53'09" de latitude Sul, 48°26'42" de longitude Oeste, e que está a 840 metros de altitude e possui clima subtropical úmido.

2.1. Animais e delineamento experimental

Nove ciclos estrais de nove jumentas da raça nordestino Brasileiro com históricos reprodutivos normais, e idade média entre $7 \pm 1,5$ anos e peso entre 100 e 176 Kg (144.5 ± 22.5 Kg) média de escore corporal de 3 em uma escala de 1-5 e com altura de cernelha entre 95,5 e 113cm (105.8 ± 5.2 cm)..Os animais foram mantidos em piquetes de 200m^2 e alimentados com feno de tifton (*Cynodon spp*).

Todos os animais foram rufiados diariamente e individualmente, utilizando um macho da mesma espécie, de 6 anos de idade, para detecção do primeiro e o último dia do estro (período de receptividade). No período da manhã o reprodutor era conduzido ao piquete, e as fêmeas eram introduzidas ao local uma única por vez, as observações duravam cerca de 3 minutos e depois trocava-se a fêmea, até que todas fossem rufiadas. Após a detecção do primeiro sinal de estro, foi feito o acompanhamento folicular das jumentas a cada 24 horas, até o momento da ovulação, por meio de exame ultrassonográfico (MyLab Five VET;, Esaote, Genoa, Itália), equipado com uma sonda linear transretal de 7,5 MHz (Modo B). A detecção do estro e as observações ultrassonográficas dos ovários foram realizadas diariamente por 1 ciclo completo depois da constatação da primeira ovulação.

Os folículos ≥ 11 mm de diâmetro foram mensurados diariamente, em imagem ultrassonográfica congelada, utilizando a medição eletrônica disponível no aparelho de ultrassom. Foram realizadas duas medições, uma no sentido horizontal e outra no sentido vertical da imagem, sendo a média das duas mensurações utilizadas para representar o diâmetro.

A localização dos folículos foi registrada pelo uso de mapeamento folicular, criando uma identidade folicular, baseado na elaboração de um esquema mostrando a posição de

dados foliculares em relação aos outros e as demais referências ovarianas. Posteriormente, a análise retrospectiva dos registros diários permitiu a construção dos perfis da dinâmica folicular ovariana, determinando o número de ondas foliculares maiores por ciclo estral, o dia do desvio folicular, o diâmetro máximo do folículo dominante e dos folículos subordinados. Considerou-se como duração do intervalo inter-ovulatório, o intervalo entre a ovulação referência (D0) e a ovulação subsequente.

A ovulação foi confirmada pela diminuição abrupta do tamanho do folículo pré-ovulatório. A partir da constatação da presença do corpo lúteo as avaliações passaram a ser realizadas por ultrassonografia em modo B e Power Doppler, com setup pré programado pelo equipamento (MyLab Five, Esaote, Genoa, Italy) usando um scanner linear de 5 MHz (Doppler). Foram realizadas as mensurações do corpo lúteo, utilizando o sistema de medição eletrônica presente no aparelho, como descrito anteriormente.

Depois de finalizados as análises do corpo lúteo em modo B, o modo Power Doppler foi ativado para o escaneamento e mapeamento do fluxo sanguíneo em várias regiões do corpo lúteo. Para minimizar as variações nas análises, foi padronizada a utilização de um preset fixo no sistema de controle do Power doppler (profundidade: 6 cm, persistência 4, Acoustic Power: 58%, densidade: High, Pulse Repetition Frequency: 0.8 KHz).

Os escaneamentos do corpo lúteo tiveram duração de 1 a 2 minutos e os vídeos foram salvos no aparelho para análises. Os vídeos foram assistidos por 1 operador, em análises cegas, sem contato prévio com os arquivos referentes a dinâmica folicular das jumentas. Quatro imagens, que continham a melhor qualidade sem a presença de artefatos e com a maior qualidade de pixels (sístole) foram digitalizadas (Macbook pro, Apple, USA).

2.2. Definições dos Parâmetros

O início da luteólise foi considerado quando a concentração de progesterona caiu 50% ou mais entre dois dias consecutivos, e o final quando a concentração atingiu níveis abaixo de 1 ng/ml [14].

O dia da ovulação foi considerado o dia 0 de cada ciclo [15]. O intervalo inter-ovulatório (IOI) foi definido como o número de dias entre duas ovulações sucessivas detectadas pelo ultrassom em dois ciclos consecutivos. O folículo ovulatório foi definido como o maior folículo detectado no dia que antecedeu a ovulação. A onda folicular menor foi definida como uma onda folicular anovulatória na qual o maior folículo atingiu um diâmetro de 18 mm [10].

A duração do crescimento folicular até o desvio foi o tempo de crescimento gasto pelo folículo de 11mm até o momento do desvio. A duração do crescimento folicular após o desvio foi o tempo gasto pelo folículo no momento do desvio até o seu diâmetro máximo. A taxa de crescimento folicular foi considerada a diferença entre o diâmetro máximo e mínimo do folículo dividido pela duração do seu crescimento. A taxa de atresia foi calculada pela diferença entre o diâmetro máximo e mínimo do folículo dividido pelo tempo de atresia.

A duração da atresia folicular foi obtido por meio do tempo gasto pelo folículo para regredir do seu diâmetro máximo até 11mm. O dia do desvio entre o futuro folículo dominante e o folículo subordinado foi determinado a partir do dia em que os dois folículos apresentaram diferenças em suas taxas de crescimento [16, 17]. Portanto, o início do desvio faz referência ao dia anterior a constatação na diferença de diâmetro entre os dois folículos.

2.3. Classificação do comportamento sexual

Para a detecção e caracterização dos sinais de estro, foi utilizado um jumento de 6 anos de idade, baseando -se em uma única observação diária e individual da receptividade sexual das fêmeas em relação ao macho, foi atribuído um score de 0 a 2, sendo 0 = sem sinal de estro, 1 = fêmea permite a aproximação do macho e inicia-se o ato de mascar, sendo o único sinal de estro presente combinado com, coice, animal inquieto ou balançando a cauda, indicando que a fêmea está entrando ou saindo do estro e 2 = ato de mascar combinado com pelo menos 1 dos itens a seguir: eversão de clitóris e levantamento da cauda em qualquer momento do período de cortejo, o qual indica período de total receptividade da fêmea [18].

2.4. Classificação do edema uterino

O grau de edema uterina foi classificado de 0 a 3, podendo a escala ser graduada. Posicionou se o transdutor e fez-se um a imagem em corte transversal do útero, avaliando o diâmetro uterino e o aumento das dobras endometriais, sendo classificados em 0 = sem presença de dobras, 1 = presença de dobras endometriais discreta 2 = presença de dobras endometriais moderada e 3 = dobras endometriais exacerbada, estimando assim o estágio do ciclo reprodutivo [19].

2.5. Análise das imagens

Para a análise quantitativa das imagens modo-B foi utilizado a ferramenta de histograma em escala de cinza (HEC) disponível no software ImageJ ® - National Institutes of Health. Por este programa, foi delimitada toda a região do corpo lúteo na imagem para a obtenção das variáveis: *Count*, *Mean* e *StdDev*. (Figura 1A).

A variável *Count* corresponde a quantidade de pixels selecionados, ou seja, é possível determinar o tamanho amostral em números de pixels representados na matriz da imagem.

A *Mean* representa a média da intensidade de brilho (ecogenicidade), a qual pode ser representada em uma escala de tons de cinza que varia de 0 (preto/hipoecóico) até 255 (branco/hiperecóico). Já *StdDev* refere-se ao desvio padrão da intensidade de brilho (ecotextura), quanto maior o valor mais heterogêneo é a amostragem.

Primeiramente foi feita a análise subjetiva da perfusão vascular luteal foi realizada por meio da estimativa da porcentagem (0% - 100%) do tecido luteal com sinais coloridos de Doppler durante o escaneamento em tempo real, como descrito anteriormente

Para a análise quantitativa das imagens do “Power Doppler”, utilizou-se o software Adobe Photoshop (versão 2014.2.1) para selecionar apenas as regiões de fluxo do corpo lúteo (Figura 1B) para posteriormente serem analisadas pelo ImageJ. Nesta etapa, efetuou-se o HEC apenas para a obtenção do tamanho amostral correspondente ao fluxo em número de pixels, disponibilizado pela variável *Count* (Figura 1C).

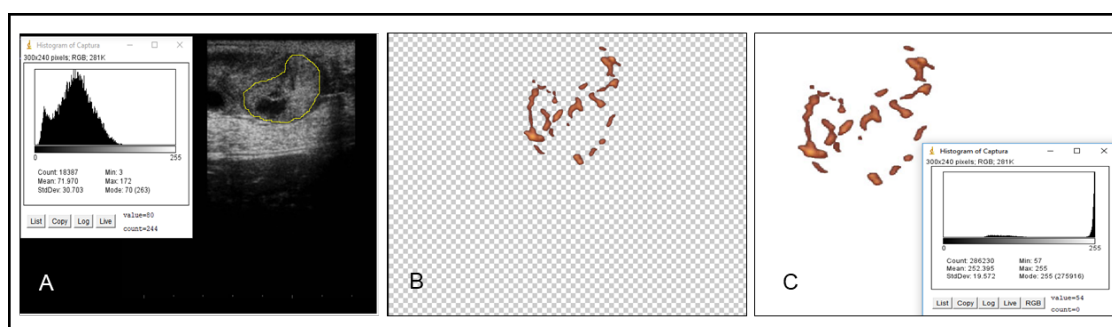


Fig. 1. A - Delimitação da região de interesse (ROI) pelo ImageJ para o fornecimento das variáveis do HEC: Count, Mean e StdDev. B - Seleção da região de fluxo do corpo lúteo da imagem do Doppler colorido. C - Quantificação dos pixels referente a região de fluxo selecionada na imagem do “Power Doppler”.

2.6. Análise Hormonal

As amostras de sangue de cada fêmea foram colhidas diariamente por meio de punção da veia jugular em tubos com ativador de coágulos, a partir da detecção de um folículo ≥ 28 mm até a detecção da ovulação referência (D0).

A partir deste momento, as amostras foram colhidas uma vez por dia até dois dias após a ovulação subsequente. Imediatamente após a colheita, as amostras foram centrifugadas a 600 x G, durante dez minutos e o soro foi mantido armazenado a -20°C , para posterior determinação da concentração plasmática da progesterona e estrógeno.

A concentração plasmática de 17- β estradiol foi determinada de acordo com Canisso et al., (2015) através de imunoensaio por quimioluminescência (Estradiol, Immulite 1000, Siemens®; valores intra-ensaio 1.2–1.4%; inter-ensaio 2–3.15%). O alcance dos valores de detecção para esse ensaio foi de 20-2000 pg/ml, com uma sensibilidade analítica de 15 pg/ml. De acordo com o fabricante, os efeitos da reação cruzada são classificados como insignificantes para a maioria dos hormônios esteroidais, reprodutivos e adrenais [20].

As concentrações de progesterona foram medidos por quimioluminescência (Immulite 1000, Siemens®), o coeficiente de variação intra ensaio foi de 1,2% e inter ensaio de 2,8%. A precisão intra e inter ensaio foi determinada por amostras constituídas por um “pool” de plasmas [21].

2.7. Análise estatística

Foi realizada estatística descritiva na análise dos dados obtidos com a finalidade de descrever as características da dinâmica folicular. A média foi utilizada como medida de tendência central e o desvio padrão foram calculados para medir a variabilidade dos

resultados.

A distribuição da taxa de crescimento folicular foi verificada com análises gráficas e testes de normalidade (Shapiro-Wilk). A análise de variância (ANOVA) seguida por Tukey foi utilizada para confrontar as médias das taxas de crescimento nos diferentes momentos (antes e após o desvio) para os folículos dominantes e subordinados. Foram consideradas diferenças Distribuição normal dos dados foi avaliada empregando o test de Kruskal Wallis. Dados que não apresentaram uma distribuição normal foram transformados em log. As comparações das variáveis diâmetro folicular, concentração de P4, fluxo sanguíneo, diâmetro do corpo lúteo e concentração de E2 foram realizadas empregando o test de ANOVA do procedimento PROC GLM. Quando a comparação incluiu o momento da luteólise ($D = 0$) bem como desvio ($D = 0$) as comparações foram realizadas empregando medidas repetidas no tempo com o PROC MIXED, o dia foi considerado como efeito fixo assim.

As matrizes de covariância foram escolhidas a partir dos critérios de informação de AIC (Akaike's Information Criterion), AICC (Consistent Akaike's Information Criterion) e BIC (Bayesian Information Criterion) e a comparação de médias realizada com pdiff. Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média \pm erro padrão da média (EPM), diferenças significativas foram consideradas quando $P < 0.05$.

A associação entre as variáveis diâmetro do folículo e concentração de estrógeno foi realizada empregando o test da correlação de Pearson mediante o PROC CORR, correlações foram diferentes quando $p < 0.05$. A classificação das correlações foi forte ($r > 0.6$) moderada ($r \leq 0.6 - r \geq 0.4$) e fraca ($r < 0.4$).

Para comparar os valores de tamanho do corpo lúteo (pixels/unit), perfusão vascular luteal (pixel/unit) e concentração de progesterona, utilizou-se o ANOVA.

Para comparar o grau de comportamento foi utilizado a MODA do escore de

comportamento e relacionado descritivamente com as concentrações de estrógeno.

3. Resultados

Os resultados obtidos no acompanhamento da dinâmica ovariana, tais como duração do Intervalo inter-ovulatório, média de dias pós ovulação até a detecção do folículo de 11 mm, taxa de crescimento do folículo 11 mm até o desvio, dia do desvio, taxa de crescimento do Subordinado (S) até o desvio, diâmetro do folículo dominante no momento do desvio, diâmetro do subordinado no momento do desvio, taxa de atresia do subordinado, taxa de crescimento do dominante pós desvio até ovulação (OV), início do estro, duração do estro e duração do full estro, estão representados em Média e SEM na Tabela 1.

Foi detectado a presença de uma onda folicular secundária em 22,22% (n=2/9) dos animais, emergindo com um diâmetro médio de $12.25 \pm 0,25$ mm, atingindo $21,1 \pm 1,6$ mm entrando em atresia e não culminando em ovulação (Figura 2).

A taxa média de crescimento do folículo dominante e do segundo maior folículo foi similar até o momento do desvio ($p > 0,05$). Após o desvio, o folículo dominante cresceu rapidamente e o subordinado regrediu ($p < 0,05$). O folículo dominante apresentou crescimento médio diário mais rápido após o desvio folicular em comparação à fase comum de desenvolvimento ($p < 0,05$) (Figura 3).

A média e desvio padrão da taxa de crescimento dos folículos dominantes e subordinados antes e após o desvio folicular, bem como a taxa de atresia do primeiro subordinado estão representadas na Tabela 2.

Tabela 1

Intervalo inter-ovulatório, média de dias pós ovulação até a detecção do folículo de 11 mm, taxa de crescimento do folículo 11 mm até o desvio, dia do desvio, taxa de crescimento do Subordinado (S) até o desvio, diâmetro do folículo dominante no momento do desvio, diâmetro do subordinado no momento do desvio, taxa de atresia do subordinado, taxa de crescimento do dominante pós desvio até ovulação (OV), início do estro, duração do estro e duração do full estro.

Variável	Média
Média de dias pós ovulação até 11mm	11,5 ± 1,99
TX Cres Fols >11mm até Desvio (mm/dia)	1,15 ± 0,19
Média de dias fol 11mm até desvio	7,00 ± 1,12
Desvio (Dia do Ciclo Estral)	16 ± 1,30
Taxa Crescimento do Subordinado até o desvio (mm/dia)	1,12 ± 0,24
Diâmetro Fol dominante momento do Desvio (mm)	21,47 ± 1,18
Diâmetro do subordinado momento desvio	21,3 ± 1,42
Taxa Atresia dos subordinados (mm/dia)	-1,37 ± 0,22
Taxa crescimento dominante pós desvio até OV (mm/dia)	1,66 ± 0,25
Início do estro (dia do ciclo estral)	17,00 ± 1,76
Duração do Estro (dias)	7,00 ± 1,24
Duração de Full Estro aceite monta (dias)	4,50 ± 0,92
Média de dias do desvio até OV	5,55 ± 1,00
Diâmetro Fol pré ovulatório um dia antes da OV (mm)	32,07 ± 0,96
Início da Luteólise (>50% queda na P4)	16,00 ± 0,89
Duração da fase Luteal (OV até P4 < 1,5 ng/mL)	17,00 ± 0,97

Dias entre a luteólise e a ovulação (Dias)	10,00 ± 0,69
Intervalo entre ovulações (Dias)	25,00 ± 1,49

Tabela 2

Média e Desvio Padrão da taxa de crescimento dos folículos dominantes e subordinados antes e após o desvio folicular.

Variáveis	Folículo	Folículo
	Dominante (mm/dia)	Subordinado (mm/dia)
Antes do Desvio	1,15 ± 0,18 ^{aA}	1,12 ± 0,24 ^{aA}
Depois do Desvio	1,66 ± 0,34 ^{bA}	-1,37 ± 0,22 ^{bB}

Letras minúsculas (a, b) indicam diferença estatística entre as colunas. Letras maiúsculas (A, B) indicam diferença estatística entre as linhas. Diferença estatística quando $p < 0,05$.

O diâmetro médio do folículo dominante ($n = 18$) um dia antes da ovulação subsequente foi de $32,07 \pm 0,96$.

O método de regressão linear foi utilizado para correlacionar as concentrações de estrógeno e o diâmetro do folículo dominante ($n = 9$) a partir de 11 mm até a ovulação subsequente (Figura 4).

O grau de edema ($n = 9$) uterino atribuído na avaliação ultrassonográfica e sua relação com os níveis de estrógeno circulante ao longo do ciclo estral foi representado em gráfico descrito, sugerindo uma influência do hormônio no aumento gradativo do grau de edema uterino (Figura 5).

Foi realizado a MODA do escore de comportamento sexual da fêmea ($n=9$) ao longo do

ciclo estral e relacionado descritivamente com os níveis de estrógeno circulantes ao longo do ciclo, observou um aumento nas características estereotipadas próximo a ovulação assim como um aumento de 30% das concentrações de estrógeno circulante entre o primeiro dia de sinal positivo de comportamento sexual e o último dia do folículo pré ovulatório, com os sinais de estro se encerrando em até 24 horas pós ovulação (Figura 6).

A frequência de ovulações (n = 18) do lado direito foi de 33,34 contra 66,66% do lado esquerdo.

Na análise subjetiva o fluxo sanguíneo luteal cai de 75% para 28% um dia depois da luteólise, sua representação. A análise subjetiva da perfusão vascular luteal bem como os níveis de progesterona (n = 8) durante todo o ciclo estral estão representados por médias e SEM (Figura 7).

O diâmetro do corpo lúteo em mm diminui 48% ($24,29 \pm 0,79$ para $15,29 \pm 1,49$) um dia depois da luteólise (Figura 8).

Obteve uma significância $p < 0,05$ entre a perfusão vascular luteal (pixel/unit) no dia 1 (D = 0 luteólise) e concentração de progesterona no D = 0 ao longo dos dias do ciclo estral (Figura 9).

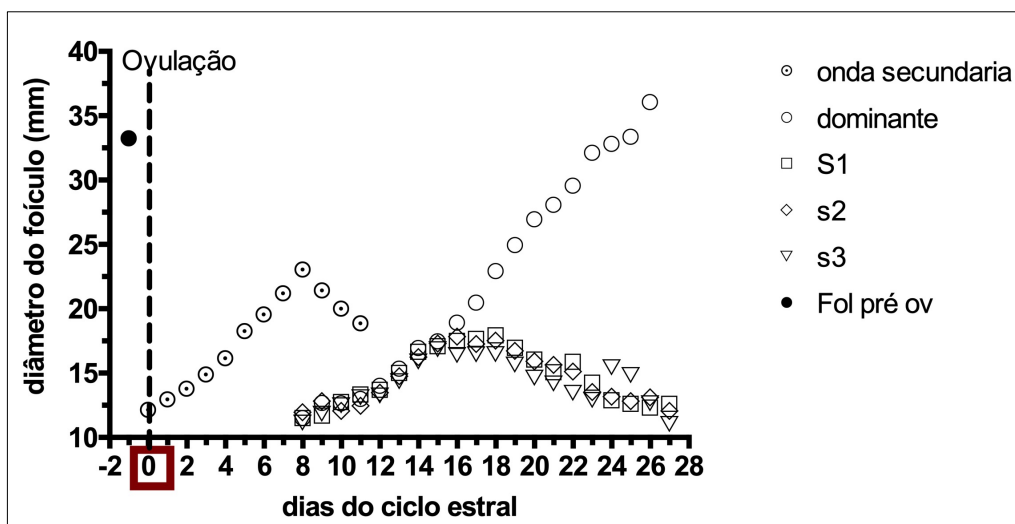


Fig. 2. Representação descritiva da dinâmica folicular ao longo de todo o ciclo estral (n=9). O dia 0 representa a ovulação anterior.

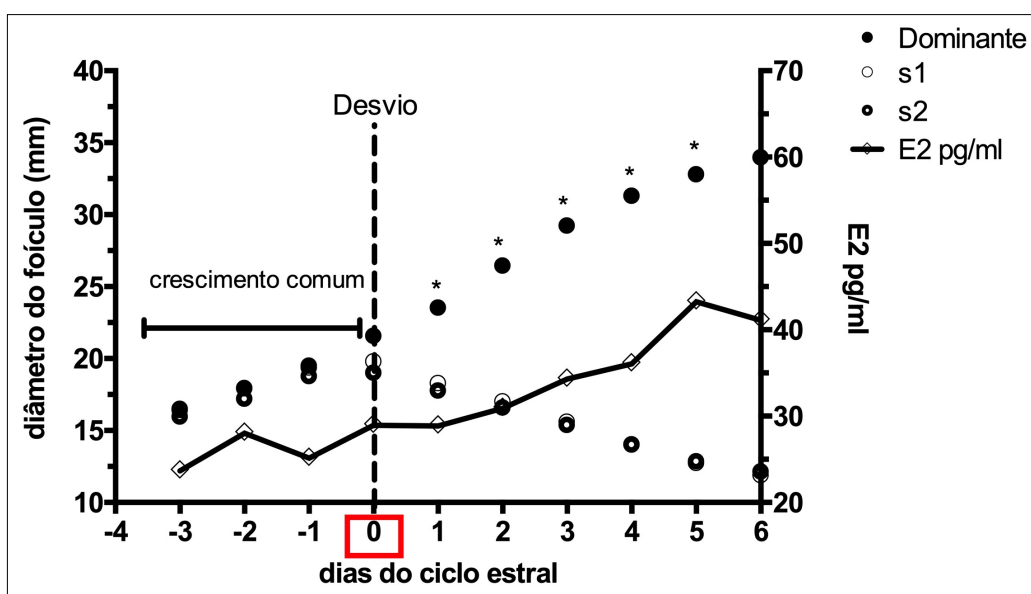


Fig. 3. As fases de crescimento, divergência e crescimento final dos folículos. A taxa média de crescimento do folículo dominante e do segundo maior folículo foi similar até o momento do desvio ($p > 0,05$). Após o desvio, o folículo dominante cresceu rapidamente e o subordinado regrediu ($p < 0,05$). O folículo dominante apresentou crescimento médio diário mais rápido após o desvio folicular em comparação à fase comum de desenvolvimento ($p < 0,05$).

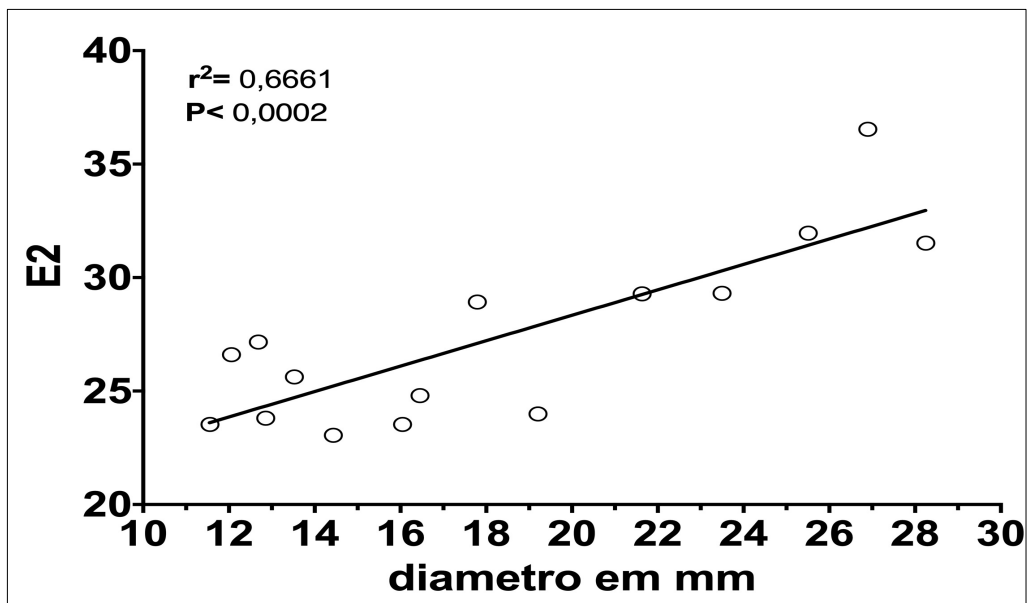


Fig. 4. Correlação Linear média e positiva entre as concentrações de estrógeno e o diâmetro do folículo dominante (n=9) a partir de 11 mm até a ovulação

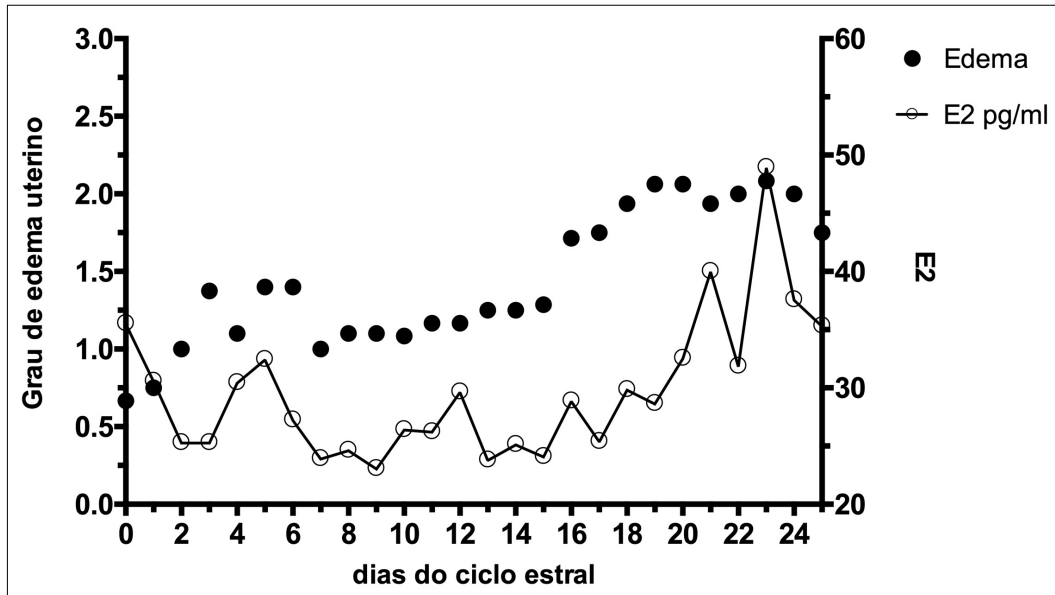


Fig. 5. Gráfico descritivo representando a variação do grau de edema uterino com as concentrações de estrógeno (n=9)

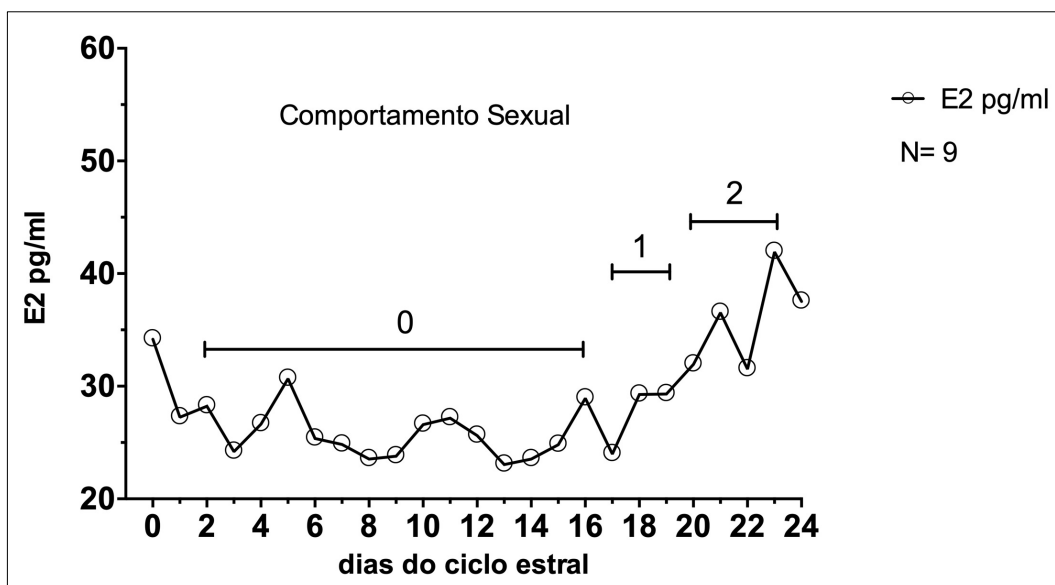


Fig. 6. Moda do grau de comportamento sexual da jumenta e concentração de estrógeno ao longo do ciclo estral (n=9).

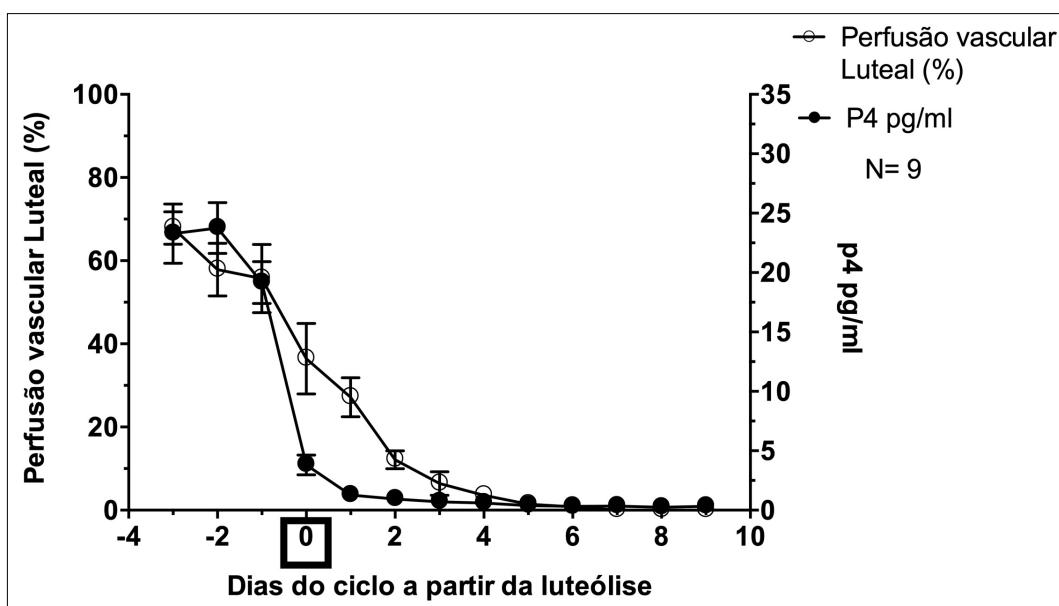


Fig. 7. Média e desvio padrão da perfusão vascular luteal (%) e concentração de progesterona (ng/ml), a partir da luteólise (n=9).

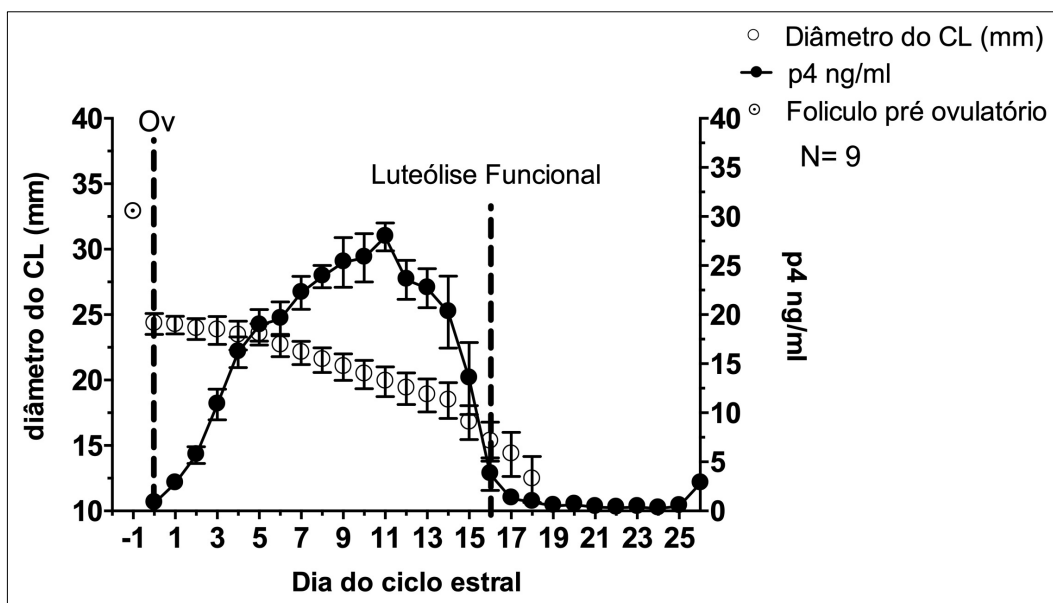


Fig. 8. Média e desvio padrão do diâmetro do corpo lúteo (mm) e concentração de progesterona (ng/ml), ao longo de todo o ciclo estral.

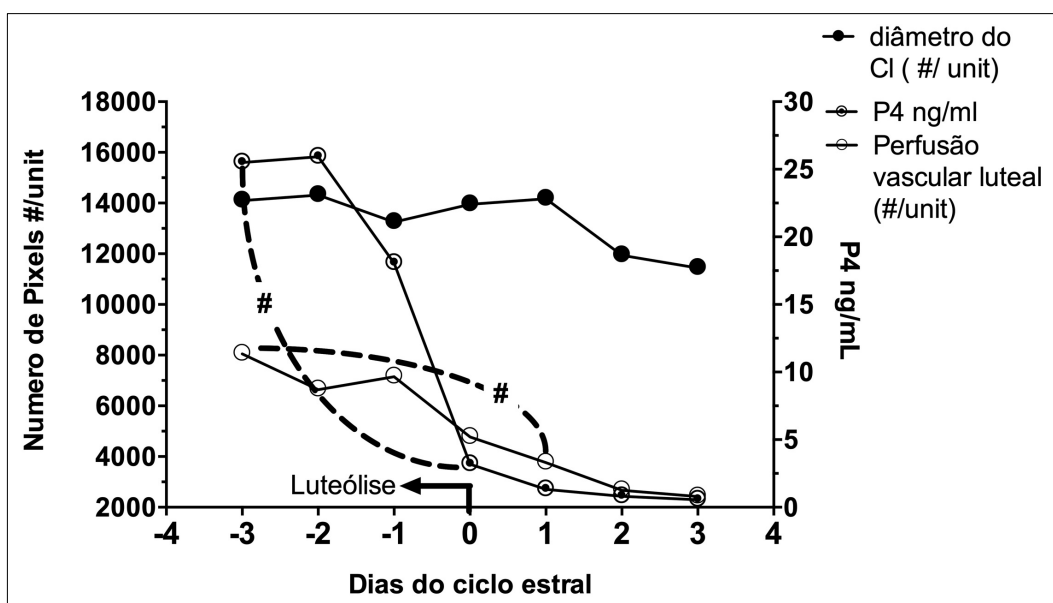


Fig. 9. Efeitos da luteólise sobre a concentração de progesterona (ng/ml), perfusão vascular luteal (#/unit) e área do corpo lúteo(#/unit). A taxa média de regressão da progesterona entre os dias -3 e 0 foi significativa ($p < 0,05$) assim como a perfusão vascular luteal entre os dias -3 e 1 ($p < 0,05$). Dia 0 representa o dia da luteólise.

4. Discussão

A espécie equina tem um período de estro relativamente longo, com a ovulação ocorrendo entre 1 a 10 dias após a primeira manifestação de receptividade sexual [22], apresenta intervalo inter ovulatório de $22.7 \pm 0,7$ dias [23]. Nos asininos, a duração do estro é similar ao da égua ($6.4 \pm 0,6$ dias) [24], porém o diestro da jumenta é mais prolongado com duração que varia de $17,25 \pm 0,72$ a $19.03 \pm 0,6$ [11, 24].

No presente estudo a duração do estro, diestro e a duração total do ciclo estral foram de $7,00 \pm 1,24$, $17,00 \pm 0,97$ e 26,4 dias. Os resultados foram similares aos obtidos por Meira et al com jumentas da raça pega, $6,3 \pm 1,7$, $17,9 \pm 2,04$ e 27,2 [11, 26, 27]. Porém, existe uma variação entre os achados principalmente relacionado ao período de diestro, que pode estar relacionado a sazonalidade, visto que em outros estudos foi observado um aumento do diestro entre os períodos de primavera e verão (24.6 para 17.6 dias) ao monitorarem a dinâmica ovariana das jumentas espanholas [28].

Em jumentas africanas, o intervalo inter ovulatório foi menor durante a estação com maior atividade sexual em comparação com o período de baixa atividade sexual [29]. Entretanto, foi observado uma diminuição na atividade sexual e, conseqüentemente, um aumento na duração do ciclo estral no verão em comparação ao outono e inverno, assim como uma diminuição no período de diestro no verão, sugerindo, assim, um aumento na fase estral [30].

O recrutamento ocorre por volta do dia 7.6 a 9.6 do ciclo estral, com folículos com diâmetro variando entre 11 e 20 mm, entretanto em jumentas observadas nesse estudo o recrutamento ocorreu entre o dia 11 e 14 pós ovulação, com a presença de 7 a 13 folículos medindo entre 13 e 16 mm [26, 31, 32].

A seleção folicular ocorreu em média no dia 16 ± 1.30 pós ovulação, ou seja, aproximadamente 5 dias após o recrutamento folicular com diâmetro médio de $21,47 \pm 1,18$ mm. Além disso, 2 a 3 dias após o recrutamento folicular os folículos atingem entre 21 e 22 mm e inicia-se a seleção folicular [33]. Essas diferenças referentes a duração das fases de crescimento e o dia do desvio folicular pode ocorrer devido ao aumento na taxa mínima de medição dos folículos (13 a 16 mm), fazendo com que o recrutamento ocorra mais tardiamente, o que gera o aumento do tempo de seleção folicular.

Ao observar descritivamente a relação da concentração de estrógeno circulante no momento do desvio, notou-se uma pequena variação no estrógeno sistêmico. Um estudo realizado com éguas, 1 dia antes do início do desvio folicular ocorre um aumento significativo das concentrações de estrógeno intrafolicular, levando a um aumento discreto no estrógeno sistêmico, sugerindo que o sistema de seleção folicular esteja vinculada a alterações hormonais mais expressivas intrafolicular [34].

Porém, foi realizado um estudo com o desvio folicular em modelo de 2 folículos e observou-se que ao deixar apenas um folículo (menor) após ablação dos outros, as concentrações de estradiol não aumentaram por um período de dois dias pós ablação, e só tiveram aumento significativo 36 horas após o aumento de IGF-1, sugerindo que o estradiol, tanto sistemicamente quanto localmente não é o pré requisito para o início do desvio de diâmetro folicular [35].

O diâmetro do folículo pré ovulatório nos asininos sofre uma variação racial muito grande, variando de 32 mm para jumentas norte africanas a 44 mm em jumentas Catalã [36, 37]. O diâmetro médio do folículo pré ovulatório foi de $32,07 \pm 0,96$, corroborando com alguns resultados encontrados para a espécie [38,30].

As concentrações de estrógeno tiveram uma correlação positiva com o aumento no

diâmetro do folículo dominante ($p < 0,05$), sinalizando que o estrógeno tem um papel fundamental na sensibilização das células da granulosa para os hormônios promotor de crescimento folicular e responsável pela ovulação (FSH e LH) [39].

Pode ser observado ao longo do estudo, um aumento no aparecimento das fossas endometriais no exame ultrassonográfico ao longo da fase folicular. O escore de edema endometrial baseado no escore das fossas endometriais tem sido aplicado como indicador de proximidade com a ovulação em éguas [40]. Entretanto, foi demonstrado uma ausência de correlação entre o grau de edema uterino, baseado na análise das fossas endometriais e a eminência da ovulação. Em jumentas sua confiabilidade não é consistente, e a necessidade da verificação da existência de uma correlação positiva entre edema e ovulação seria de grande importância para o manejo reprodutivo da espécie.

O principal sinal comportamental das jumentas no período de receptividade sexual perante ao macho é a mastigação, outros sinais como levantamento e abaixamento da cauda, eversão do clitóris e o ato de urinar também são observados. Esses mesmos sinais foram descritos em diferentes raças de asininos, mostrando que os sinais estereotipados são característicos da espécie [41; 42]. O ato de mascar, também foi observado em éguas jovens, ponies e potros, é direcionado ao macho adulto, sugerindo um sinal de submissão [43], ações semelhantes a essa também foram observadas nas zebras [44]. Ao longo do ciclo estral, o comportamento sexual foi aumentando com a proximidade da ovulação, até dois dias antes da ovulação todos os animais apresentavam mastigação, associado ou não a algum outro sinal, porém nunca ausente, resultados que corroboram com os obtidos por Godelieve [45], que observou que esse sinal característico surgia um dia antes e perdurava até um dia após o término dos outros sinais clínicos, sendo um bom indicador na detecção da receptividade sexual das

jumentas. Porém, já foi observado que o ato de mascar pode ser ausente em alguns animais da mesma espécie, mesmo na presença de um folículo pré ovulatório [46]. A diferença na repetibilidade dos sinais de receptividade sexual nos asininos ainda é desconhecida, necessitando de mais estudos para a melhor compreensão do comportamento sexual da espécie.

O diâmetro do corpo lúteo tem uma importante relação com a produção de progesterona na espécie bovina. O aumento da perfusão vascular no corpo lúteo jovem aumenta concomitantemente com a área do corpo lúteo e a concentração plásmatica de progesterone nos bovinos [47]. Com o intuito de formar um corpo lúteo acessório, foi aplicado 3000 UI de hCg, houve o aumento na secreção de progesterona durante a fase luteal media, ademais, no exame ultrassonográfico foi observado um aumento significativo na área e no volume tanto do tecido luteal total quanto do maior corpo lúteo [48].

Esse mesmo fenômeno não pode ser observado nas éguas, os tratamentos com indutores de ovulação são capazes de desencadear uma cascata de eventos ovulatórios porém sem alteração o tamanho e a função da do corpo lúteo [49, 50, 51]. No presente estudo não foi observado correlação entre a concentração de progesterona e o diâmetro do corpo lúteo.

O aumento nos parâmetros do fluxo Doppler apresenta uma correlação positiva e alta em relação ao aumento da concentração de progesterona em éguas com ovulação espontânea [52, 53]. Já durante a luteólise, a vascularidade do corpo lúteo diminui, fenômeno acompanhado pela diminuição na concentração de progesterona. Em bovinos, a luteólise é antecedida por um aumento agudo na perfusão sanguínea, fenômeno esse que não é observado nas éguas assim como não foi observado no presente estudo [53, 54, 55].

Um aumento transitório no fluxo sanguíneo luteal entre a hora 1 e 3 pós luteólise foi observado nas jumentas, assim como relatado em éguas, porém 24 horas após a indução da luteólise os parâmetros Doppler para perfusão luteal eram mínimos, sugerindo que a luteólise funcional ocorre antes da estrutural nos asininos [56, 57, 58]. No presente estudo confirmou-se que o fluxo sanguíneo luteal nos parâmetros doppler teve uma queda de aproximadamente 33%, no dia da constatação da luteólise em relação ao dia anterior, assim como a concentração plasmática de progesterona diminuindo 88%. Uma correlação significativa positiva foi observada entre as concentrações de progesterona e a perfusão vascular do corpo lúteo, sugerindo que o exame Doppler é uma importante ferramenta no monitoramento dos eventos luteais [59].

5. Conclusão

Pode-se concluir com esse estudo, que as jumentas revelam diferenças evidentes com relação as éguas, tanto no comportamento sexual quanto nas avaliações das estruturas por meio da ultrassonografia.

Porém, quanto a dinâmica folicular e perfil hormonal referente ao ciclo estral, as jumentas apresentam um padrão hormonal muito similar as éguas, mostrando certa variabilidade em quantidade, longitudinalidade e momento de secreção de cada um dos hormônios avaliados neste estudo. A ferramenta Doppler se mostrou eficaz no monitoramento da luteólise das jumentas. Entretanto, este estudo abre pauta para a avaliação de outros hormônios como a inibina, $PGF_2\alpha$ e PGFM, nos momentos de desvio folicular e luteólise, podendo ser associadas a ultrassonografia Doppler no momento da seleção folicular, isto ajudará a concretizar o ciclo estral da jumenta

propiciando um melhor entendimento dos fenômenos relacionados a dinâmica ovariana da espécie.

Referências

- [1] Domestic Animal Diversity Information System, F., 2016. DAD-IS – Domestic Animal Diversity Information System [WWW Document]. URL [Http://Dad.Fao.Org/](http://Dad.Fao.Org/) (Acesso 20 De Outubro De 2018).
- [2] Zewdie, B, Welday, K., Pal, SK, 2015. Conservation Of Indigenous Donkey Breeds Of Ethiopia: A Review. *Int. J. Interdiscip. Multidiscip. Stud.* 2, 13–22
- [3] Almeida, LD, 2009. Genetic Study About Donkeys In Brazil: Genetic Diversity Of The Donkey Breeds Created In Brazil, Based On Analysis Of Microsatellite Loci And MTDNA. Master Thesis. Universidade De Brasília, Brasília, DF, Brasil.
- [4] IBGE - Brazilian Institute For Geographical Statistics, 2016. IBGE | Séries Estatísticas & Séries Históricas [WWW Document]. (Acessado 03 De Outubro De 18).
- [5] Miragaya H. M.; Neild D. M. N.; Alonso A. E. A. A Review Of Reproductive Biology And Biotechnologies In Donkeys “*Journal Of Equine Veterinary Medicine*, V.65, P 55-61, 2017.
- [6] https://Brasil.Elpais.Com/Brasil/2016/10/06/Economia/1475775231_389146.Html. Acesso Em : 20/02/2019.
- [7] Henry M, Lodi LD, Gastal MMFO. Sexual Behaviour Of Domesticated Donkeys (*Equus Asinus*) Breeding Under Controlled Or Free Range Management Systems. *Appl Anim Behav Sci*, V.60, P.263-276, 1998.
- [8] McDonnell MS. Reproductive Behavior Of Donkeys (*Equus Asinus*). *Appl Anim Behav Sci* V.60, P.277-282, 1998
- [9] Meira, C, Ferreira, Jcp.; Papa, F.O, Tornero, Mtt, Bicudo, Sd. Study Of The Cycle In Donkeys (*Equus Asinus*) Using Ultrasonography And Plasma Progesterone Concentrations. *Biol. Reprod. Mono*, V.1, P.403-410, 1995.
- [10] Ginther, OJ. Beg, MA. Gastal MO. Gastal EL. Follicle Dynamics And Selection In Mares”, *Animal Reproduction.*, V.1, P.45-63, 2004.
- [11] Derar RI, Hussein A. Ovarian Follicular Dynamics During The Estrous Cycle In Jennies In Upper Egypt. V.11, P.1-6, 2011
- [12] Nagy, P. Huszenicza, GY.; Reiczigel, J, Juhasz, J.; Kulcsar, M.; Abavary, K.; Guillaume, D. Factors Affecting Plasma Progesterone Concentration And The Retrospective Determination Of Time Of Ovulation In Cyclic Mares. *Theriogenology*, V. 61, P. 203- 214, 2004
- [13] Ginther OJ. Ultrasonic Imaging And Animal Reproduction, Book 2: Horses. Cross Plains (WI): Equiservices Publishing; 1995.
- [14] Ginther OJ, Utt MD, Bergfelt DR, Beg MA. Controlling Interrelationships Of Progesterone/LH And Estradiol/LH In Mares. *Anim Reprod Sci* 2006;95: 144e50.
- [15] Carnevale EM, Bergfelt DR, Ginther OJ. Aging Effects On Follicular Activity And Concentrations Of FSH, LH, And Progesterone In Mares. *Anim Reprod Sci* 1993;31:287e99.
- [16] E. L. Gastal, M. O. Gastal, D. R. Bergfelt, And O. J. Ginther, “Role Of Diameter Differences Among Follicles In Selection Of A Future Dominant Follicle In Mares,” *Biology Of Reproduction*, Vol. 57, No. 6, Pp. 1320–1327, 1997.
- [17] O. J. Ginther, MC. Wiltbank, P. M. Fricke, J. R. Gibbons, And K. Kot, “Selection Of The Dominant Follicle In Cattle,” *Biology Of Reproduction*, Vol. 55, No. 6, Pp. 1187–1194, 1996.
- [18] Duran D. M. Zarco. L. Boeta. M. A. Ovarian Dynamics And Estrous Cycle Length In The Donkeys (*Equus Asinus*). *Theriogenology*, V.103, P. 1-8,2017

- [19] Hayes, K.E.N., Pierson, R.A., Scraba, S.T. And Ginther, O.J. Effects Of Oestrous Cycle And Season On Ultrasonic Uterine Anatomy In Mares. *Theriogenology*. 24 (1985), 465-477.
- [20] Canisso, I.F., Ball, B.A., Cray, C., Williams, Esteller-Vico, A., G.M., Squires, E.L. And Troedsson, M.H. Changes In Maternal Androgens And Oestrogens In Mares With Experimentally-Induced Ascending Placentitis *Equine Vet. J.* 0 (2016), P 1-6.
- [21] Wynn MAA, Esteller-Vico A, Legacki EL, Conley AJ, Loux SC, Stanley SD, Curry Jr. TE, Squires EL, Troedsson MH, Ball BA, A Comparison Of Progesterone Assays For Determination Of Peripheral Pregnane Concentrations In The Late Pregnant Mare. *Theriogenology*. 106 (2017), Pp. 127-133.
- [22] Blanchard, T.L; T.S. Taylor, C.L. Love. Estrous Cycle Characteristics And Response To Estrus Synchronization In Mammoth Asses (*Equus Asinus Americanus*). *Theriogenology*, 52 (1999), Pp. 827-834
- [23] Miller, K. F., Berg, S. L., Sharp, D. C., And Ginther, O. J. Concentrations Of Circulating Gonadotropins During Various Reproductive States In Mares. *Biol. Reprod.* 22: 744-750 (1980).
- [24] Vandeplassche, G.M., Wesson, J.A., Ginther, O.J. Behavioral, Follicular And Gonadotropin Changes During The Estrous Cycle In Donkeys. *Theriogenology*, V. 16, N. 2, P 239-249, 1981
- [25] Maricruz Díaz-Duran, Luis Zarco, Ana Myriam Boeta. Ovarian Dynamics And Estrous Cycle Length In The Donkey (*Equus Asinus*) *Theriogenology*, *Theriogenology* 103 (2017) 1-8 , 2017
- [26] Conceicao J.C., Freitas L.M., Aguiar C.R., Araujo G.H., Oliveira J.V. Avaliacao Ultrassonográfica De Dinâmica Folicular Ovariana De Jumenta (*Equus Asinus*) Durante O Ciclo Estral. *Medicina Veterinaria Recife*, 2009;3(3):7-14.
- [27] Galisteo J, Perez-Marin CC. Factors Affecting Gestation Length And Estrus Cycle Characteristics In Spanish Donkey Breeds Reared In Southern Spain. *Theriogenology* 2010; 74:443e50.
- [28] Lemma, A., Schwartz, H. J., & Bekana, M. (2006). Application Of Ultrasonography In The Study Of The Reproductive System Of Tropical Jennies (Shape *Equus Asinus*). *Tropical Animal Health And Production*, 38(4), 267–274.
- [29] Contri, A. R., Gloria, A. D., Veronesi, M.C., Carluccio , A. Effect of the Season On Some Aspects Of The Estrous Cycle In Martina Franca Donkey. *Theriogenology* 2014; 81:657e61.
- [30] Ginther, O.J, Scraba, S.T, Bergfelt, D.R. Reproductive Seasonality Of The Jennies. *Theriogenology* 1987;27:587e92.
- [31] O. J. Ginther, M. A. Beg, M. O. Gastal, E. L. Gastal. Follicle Dynamics And Selection In Mares. *Anim. Reprod.*, V.,1 N.1, P.45-63, Oct./Dec. 2004
- [32] Gastal, E.L, Gastal, M.O, Ginther, O.J. 1999a. Experimental Assumption Of Dominance By A Smaller Follicle And Associated Hormonal Changes In Mares. *Biol Re- Prod*, 61:724–730.
- [33] Tibary A, Sghiri A, Bakkoury M, Fite C. Reproductive Patterns In Donkeys. *Proceedings Of The 9th International Congress Of World Equine Veterinary Association*. Reprinted In *IVIS With The Permission Of The Conference Orga- Nizers*.
- [34] Rosenfeld, C.S, Wagner, J.S, Roberts, R.M, Lubahn, D.B. 2001. Intraovarian Actions Of Oestrogen. *Repro- Duction*,122:215–226
- [35] Pycock, J., 2002. Ultrasound Characteristics Of The Uterus In The Cycling Mare And Their Correlation With Steroid Hormones And Timing Of Ovulation ([Http://Www.Equinereproduction.Com/Articles/Ultrasoundsteroids.Shtml](http://www.Equinereproduction.Com/Articles/Ultrasoundsteroids.Shtml))
- [36] Watson, E.D., Thomassen, R. And Nikolakopoulos, E., 2003. Association Of

Uterine Oedema With Follicle Wave Around The Onset Of The Breeding Season In Pony Mares. *Theriogenology*, 59(5–6), 1181–1187.

- [37] M. Henry, A.E.F., Figueiredo, M.S., Palhares, M. Coryn. Clinical And Endocrine Aspects Of The Oestrous Cycle In Donkeys (*Equus Asinus*) *J Reprod Fert Suppl*, 35 (1987), Pp. 297-303
- [38] Niswender, G.D, Juengel, J.L, Silva, P.J, Rollyson, M.K, Mcintosh, E.W. Mechanisms Controlling The Function And Life Span Of The Corpus Luteum. *Physiol Rev* 2000;80:1–29.
- [39] Galvão, A.M, Ferreira-Dias, G., Skarzynski, D.J. Cytokines And Angiogenesis In The Corpus Luteum. *Mediators Inflammation* 2013;2013:420186.
- [40] Bollwein, H., Mayer, R., Weber, F., Stolla, R. Luteal Blood Flow During The Estrous Cycle In Mares. *Theriogenology* 2002;57:2043–51
- [41] Townson, D.H, Pierson, R.A, Ginther, O.J. Characterization Of Plasma Progesterone Concentrations For Two Distinct Luteal Morphologies In Mares. *Theriogenology* 1989;32:197–204
- [42] Romano, R.M, Ferreira, J.C. De Siqueira, Canesin. H, Boakari, Y.L, Ignacio, F.S, Novaes Filho, L.F,. Characterization Of Luteal Blood Flow And Secretion Of Progesterone In Mares Treated With Human Chorionic Gonadotropin For Ovulation Induction Or During Early Diestrus. *J Equine Vet S. C* 2015;35:591e7
- [43] M. Henry, A.E.F. Figueiredo, M.S. Palhares, M. Coryn. Clinical And Endocrine Aspects Of The Oestrous Cycle In Donkeys (*Equus Asinus*) *J Reprod Fert Suppl*, 35 (1987), Pp. 297-303
- [44] E.Taberner A.Medrano A.Peña T.Rigau J.Miró. Oestrus Cycle Characteristics And Prediction Of Ovulation In Catalanian Jennies *Theriogenology*. V. 70, P. 1489- 1497, 2008.
- [45] Quaresma, M., Carreira, R. P. Characterization Of The Estrous Cycle Of Asinina De Miranda Jennies (*Equus Asinus*). *Theriogenology*, V. 83, P. 616-624, 2014
- [46] Feist, J. D., And McCullough, D. R. Behavior Patterns And Communication In Feral Horses. *Z. Tierpsychol.* 41: 337-371 (1976)
- [47] Wesson, J. A., And Ginther, O. J. Plasma Gonadotropin Levels In Intact And Ovariectomized Prepubertal Ponies. *Biol. Reprod.* 20: 1099-1104 (1979).
- [48] Asa, C.S. Sexual Behaviour Of Mares. *Vet Clin N Am: Eq Pract* 1986;2:519–34.
- [49] Nishikawa, Y., And Yamasaki, Y. Studies On The Reproduction In Asses. Breeding Season, Oestrous Cycle And Period Of Oestrus. *Jap. Journal Of Zootech. Science* 19: 119-123 (1949).
- [50] Acosta, T.J, Hayashi, K.G, Ohtani, M, Miyamoto A. Local Changes In Blood Flow Within The Preovulatory Follicle Wall And Early Corpus Luteum In Cows. *Reproduction* 2003;125:759–67
- [51] Santos, J.E, Thatcher, W.W, Poo, L.L, Overton, M.W. Effect Of Human Chorionic Gonadotropin On Luteal Function And Reproductive Performance Of High-Producing Lactating Holstein Dairy Cows. *J Anim Sci* 2001;79:2881–94.
- [52] Richards, J.S, Russel, D.L, Ochsner, S, Espey, L.L. Ovulation: New Dimension And New Regulators Of The Inflammatory-Like Response. *Annu Rev Physiol* 2002;64:69–92.
- [53] Ginther, O.J., Gastal, E.L., Gastal, M.O., Utt, M.D., Beg, M.A. Luteal Blood Flow And Progesterone Production In Mares. *Anim Reprod Sci* 2007;99: 213–20.
- [54] Bollwein, H, Mayer, R, Weber, F, Stolla, R. Luteal Blood Flow During Cycle In Mares. *Theriogenology* 2002;65:2043–51.
- [55] Acosta, T.J. Differential Blood Flow Changes Between The Future Dominant And Subordinate Follicles Precede Diameter Changes During Follicle Selection In Mares.

Biology Of Reproduction, V.71, P.502-507, 2004b.

[56] Miyamoto, A. Et Al. Blood Flow: A Key Regulatory Component Of Corpus Luteum Function In The Cow. *Domest Animal Endocrinology.*, V.29, P.329-339, 2005.

[57] Ginther, O.J. Characterisation Of Pulses Of 13,14- Dihydro-15-Keto-PGF2alpha (PGFM) And Relationships Between PGFM Pulses And Luteal Blood Flow Before, During, And After Luteolysis In Mares. *Reproduction, Fertility And Development*, V.20, P.684-693, 2008.

[58] Ginther, O.J. The End Of The Tour De Force Of The Corpus Luteum In Mares. *Theriogenology* 2012;77:10421–1049.

[59] Miró , K. Vilés , O. Anglada , H. Marín , J. Jordana A. Crisci. Color Doppler Provides A Reliable And Rapid Means Of Monitoring Luteolysis In Female Donkeys. *Theriogenology* 83 (2015) 485–490, 2014.