



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
FACULDADE DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

**INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO SOBRE A FUNÇÃO OVARIANA DE
CAPRINOS EXPLORADOS NO NORDESTE DO BRASIL**

Ney Rômulo de Oliveira Paula

Fortaleza - Ceará
Dezembro, 2004

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ

Ney Rômulo de Oliveira Paula

**INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO SOBRE A FUNÇÃO OVARIANA DE
CAPRINOS EXPLORADOS NO NORDESTE DO BRASIL**

**Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado em Ciências Veterinárias –
Faculdade de Veterinária da
Universidade Estadual do Ceará, como
requisito parcial para a obtenção do
grau de Mestre em Ciências
Veterinárias.**

**Área: Reprodução e Sanidade Animal
Orientador: Prof. Dr. Davide Rondina.**

Fortaleza – Ceará

Dezembro, 2004

P324i Paula, Ney Rômulo de Oliveira

Influência da nutrição sobre a função ovariana de caprinos explorados no Nordeste do Brasil / Ney Rômulo de Oliveira Paula. – 2004

111 p.

Orientador: Prof. Dr. Davide Rondina

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária.

1. Nutrição 2. Reprodução 3. Caprinos I. Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária.

CDD: 636.08926

Universidade Estadual do Ceará
Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias

Título do trabalho: Influência da nutrição sobre a função ovariana de caprinos explorados no Nordeste do Brasil

Autor: Ney Rômulo de Oliveira Paula

Defesa em: 20/12/2004

Conceito obtido: _____

Nota obtida: _____

Banca Examinadora

Davide Rondina, Prof. Dr.

Orientador

Vicente José de Figueirêdo Freitas, Prof. Dr.

Marcos Antônio Lemos de Oliveira, Prof. Dr.

Arturo Bernardo Selaive Villarroel, Prof. Dr.

José Maria dos Santos Filho, Prof. Dr. (Suplente)

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação inicialmente a **Deus**, por toda força de vontade de vencer nesta vida sem precisar prejudicar o próximo, por alcançar mais esta vitória, por me consolar nas horas de certas alegrias e desesperos, e também por colocar neste mundo duas pessoas sem as quais eu nada seria: meu pai e minha mãe.

Dedico especialmente à minha família: a meus pais, pelo incentivo, paciência, amor, dedicação, como também por seus esforços em guiar-me a uma instituição pública e gratuita; a meus irmãos por estarem sempre ao meu lado, nas horas de felicidades e de tristezas e, até mesmo, de desespero.

Dedico esta dissertação a uma pessoa que a cada dia que passa vem se tornando cada vez mais especial para mim: Janaína de Fátima Saraiva Cardoso, por seu incentivo e força em todas as horas, Janaína te amo.

Dedico, também, àqueles professores, em especial do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, que têm o prazer de ensinar e de acompanhar o crescimento do profissional em sua carreira, contribuindo não só para a formação profissional do indivíduo, mas também para a formação como ser humano, respeitando e ajudando o próximo com humildade acima de tudo. E destes professores, destacam-se dois eternos orientadores: Dr. Francisco Átila de Lira Gondim e Dr. Vicente José de Figueirêdo Freitas, os quais são grandes responsáveis, também, pela pessoa que hoje sou.

Dedico a meu orientador de mestrado prof. Dr. Davide Rondina pelo enriquecimento profissional me proporcionado durante estes quase dois anos de dedicação, e também pelo meu enriquecimento pessoal.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me oferecer paciência, sabedoria, humildade, força, sorte e fé nesta vida. Obrigado meu grandioso Deus...

Agradeço do fundo do coração, à minha querida família por todo apoio e por ser responsável pelo caráter que tenho.

Agradeço a Janaína de Fátima Saraiva Cardoso, pelo amor, compreensão, força e incentivo em todos os momentos.

Agradeço muito ao doutorando Edílson Soares Lopes Júnior pelo incentivo, e aprendizado desde a iniciação científica até este final de mestrado. Agradeço ao doutorando Dárcio Ítalo Alves Teixeira por toda ajuda e apoio na formulação de meus trabalhos durante este período. Agradeço aos estudantes de graduação Iracelma Julião de Arruda, Emanuel Maia, Isadora Machado, Karlielli de Castro, Daniel Holanda, Deborah Magalhães, Aline Lima, Aline Aragão e Elizabeth Saraiva por me ajudarem a crescer profissionalmente de uma forma ou de outra.

Agradeço a meu orientador Prof. Dr. Davide Rondina por todas as ajudas prestadas, pela compreensão, pela confiança em desenvolver um projeto e por todas as sugestões dadas durante esse período de aprendizagem.

Agradeço ao meu co-orientador, Prof. Dr. Vicente José de Figueirêdo Freitas, por ter me acolhido no laboratório e apostado na minha pessoa para assumir responsabilidades de sua confiança até hoje.

Agradeço ao Dr. Marcos Antônio Lemos de Oliveira da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela nossa grande amizade, e pelo incentivo durante esta fase de minha vida.

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro durante minha acadêmica no mestrado, onde contribuiu bastante para meu aproveitamento nas pesquisas realizadas.

Agradeço também a todos os funcionários da Universidade Estadual do Ceará, principalmente aqueles do PPGCV (Dona Alzanira, Adriana, Oliveira, César e Selmar) e os funcionários da Pró-reitoria de pesquisa (Elly, Lucinha, Ana Valda, Jóia e os demais) por toda a ajuda prestada durante este e outros períodos.

RESUMO

Durante seis meses, dez cabras mestiças de Saanen foram submetidas à subnutrição (70% M). Ao final, cinco dessas cabras foram realimentadas durante seis semanas com 150% M. Todos os animais foram submetidos a um tratamento de sincronização do estro. A partir do início do estro, durante um período de 24 h, foram colhidas amostras de sangue para mensurações de estradiol, AGNE e glicose. A ovulação foi verificada por laparoscopia três dias após a remoção das esponjas. Foram realizadas análises histológicas com o intuito de determinar a densidade da população folicular, o crescimento folicular, bem como caracterizar a zona pelúcida e teca interna. As perdas de massa corporal foram $18,62 \pm 3,03\%$ do peso inicial e nas cabras realimentadas a recuperação do peso corporal foi de $90,63 \pm 3,56\%$. Os níveis de AGNE e de glicose foram maiores nas cabras restritas. Cinquenta por cento das cabras subalimentadas e todas as cabras realimentadas exibiram estro e ovulação. Uma relação significativa foi verificada entre a perda de peso e o intervalo entre a remoção das esponjas e início do estro ($R = 0,91$) ou taxa de ovulação ($R = 0,70$). No grupo realimentado a taxa de ovulação foi relacionada com a quantidade de estradiol ($R = 0,99$). Foi verificada uma concentração superior de folículos primordiais e de folículos atresícos nas cabras após o período de restrição alimentar, além de um número estatisticamente superior na densidade de células da granulosa nas classes foliculares para os animais realimentados. Coletivamente os resultados mostraram que um curto período de realimentação restabeleceu a função ovariana em cabras subnutridas cronicamente.

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO.....	07
LISTA DE FIGURAS.....	09
LISTA DE TABELAS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
1) INTRODUÇÃO.....	13
2) REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3) JUSTIFICATIVA	36
4) HIPÓTESE	38
5) OBJETIVOS.....	39
6) CAPÍTULO 1	40
7) CAPÍTULO 2	48
8) CAPÍTULO 3	61
9) CONCLUSÃO GERAL.....	82
10) PERSPECTIVAS	83
11) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
12) ANEXOS	100

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1. Concentrações de progesterona (P ₄) (marcas pretas) e cortisol (marcas brancas) em cabras locais do Nordeste do Brasil (3°S, 38°W) após 30 dias de severa restrição alimentar (0,5 M) (acima e abaixo). Setas pretas indicam os dias que as fêmeas apresentaram estro.....	25
FIGURA 2. Proporção de ciclos estrais em cabras submetidas a diferentes planos nutricionais.....	45
FIGURA 3. Níveis médios de AGNE ($\pm$ E.P.) no início do estro, após o tratamento de sincronização do estro, para os grupos subnutridos (coluna preta) e realimentados (coluna branca). a, b: P < 0.05.....	56
FIGURA 4. Intervalo remoção das esponjas e início do estro (RE-IE) (colunas), número de ovulações (número sobre as colunas marcadas) e perda de peso corporal (por cento) durante a restrição alimentar. As setas indicam quiescência ovariana (ausência de estro e ovulação). Cada coluna na figura representa uma cabra.....	57
FIGURA 5. Níveis de estradiol de acordo com o período do início do estro em cabras subnutridas e realimentadas.....	58
FIGURA 6. Peso corporal (PC) verificado semanalmente durante o experimento. Os quadrados marcados representam o período de realimentação.....	77
FIGURA 7. Representação do índice mitótico ($\pm$ E.P.) por classes para os folículos tratados com colquicina.** (P < 0.05).....	77
FIGURA 8. Relação entre o tamanho dos folículos e a porcentagem dos que continham um antro distinto. Porcentagens representam o volume do folículo ocupado pela cavidade.....	78
FIGURA 9. Diâmetro do oócito nos folículos com diferentes números de células da granulosa. Valores expressos em media $\pm$ E.P. ** P < 0.05.....	78

LISTA DE TABELAS

	Pág.
TABELA 1. Resultados da restrição nutricional em cabras com estro sincronizado: comparação entre estudos conduzidos em regiões temperadas e tropicais.....	23
TABELA 2. Efeito da quantidade da dieta no número médio ($\pm$ E.P.) de folículos, e taxa de formação de blastocistos oriundos de oócitos colhidos transvaginalmente e cultivados <i>in vitro</i> . As novilhas foram alimentadas a uma baixa (1 Kg/dia de concentrado mais 3 Kg de feno) ou alta (7 Kg/dia de concentrado mais feno a vontade) dieta diária.....	28
TABELA 3. Média ($\pm$ E.P.) do peso corporal inicial e final (Kg) de cabras submetidas a diferentes planos nutricionais.....	45
TABELA 4. Média ($\pm$ E.P.) do ciclo estral e duração do estro, segundo o plano nutricional.....	46
TABELA 5. Concentração média de folículos normais (N / mm ²) e atresícos (%).	79
TABELA 6. Classificação e caracterização dos folículos em diferentes classes de tamanhos.....	80
TABELA 7. Presença da zona pelúcida (ZP) e definição da teca interna (TI) nos folículos.....	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Abreviatura	Significado
A	Alto plano alimentar
AGNE	Ácidos graxos não-esterificados
B	Baixo plano alimentar
BA	Baixo e alto plano alimentar
CAPES	Comissão de Aperfeiçoamento Pessoal de Ensino Superior
E.P.	Erro padrão
E ₂	Estradiol
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
FGA	Acetato de fluorogestona
Fig.	Figura
FSH	Hormônio folículo estimulante
FUNCAP	Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
IA	Inseminação Artificial
IE	Início do estro
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina
LH	Hormônio luteinizante
M	Manutenção
n	Número
P ₄	Progesterona
pFSH	Hormônio folículo estimulante de origem suína

PGF _{2α}	Prostaglandina F _{2α}
RE	Retirada das esponjas
SRD	Sem raça definida
TI	Teca interna
ZP	Zona pelúcida

1. INTRODUÇÃO

Os caprinos são tão numerosos quanto importantes do ponto de vista econômico e social em vários países tropicais. Atualmente, existem aproximadamente 9,5 milhões de caprinos no Brasil, e deste total 93,2% estão presentes na região Nordeste, a qual é caracterizada por um clima semi-árido (IBGE, 2002). Uma boa parte deste rebanho é composta de animais oriundos de raças locais ou sem raça definida (SRD), os quais são caracterizados por uma elevada adaptabilidade às condições ambientais, porém apresentam baixas taxas de produtividade (Oliveira e Lima, 1994). Contudo, com o objetivo de elevar a produtividade dos rebanhos caprinos, especialmente para a produção de leite, criadores têm utilizado raças importadas, como por exemplo a Saanen, as quais são mantidas em sua pureza genética ou usadas para cruzamentos com raças locais ou com animais SRD.

Em baixas latitudes ($<25^{\circ}$), as populações nativas de muitas espécies, entre as quais os caprinos, em ausência de influências significativas ou de inibições fotoperiódicas (anestro estacional), submetem seu desempenho reprodutivo aos fatores sociais e nutricionais (Walkden-Brown e Restall, 1996). É possível ainda nesses ambientes testar os níveis de influência da nutrição sobre a reprodução sem a interferência de outros fatores.

Nestas condições o uso de tratamentos hormonais para a sincronização do estro e da ovulação fica subordinado à disponibilidade de suplementação ou à condição corporal da fêmea. Em cabras, também é conhecido que o sucesso do tratamento de sincronização do estro pode ser afetado pela severa restrição alimentar

aplicada por curto (Mani *et al.*, 1992; Mani *et al.*, 1996) ou médio prazo (Kusina *et al.*, 2001).

Contudo, em áreas tropicais como o Nordeste do Brasil, os efeitos nutricionais sobre a eficiência reprodutiva em caprinos são pouco conhecidos. Assim, estudos no que se refere à interação entre a nutrição e reprodução serão de extrema importância para a exploração de caprinos.

Objetivando um melhor esclarecimento da importância deste trabalho, será realizada uma revisão de literatura abordando os seguintes aspectos: a ação da nutrição sobre a função ovariana (foliculogênese, taxa de ovulação e qualidade oocitária), bem como os efeitos da mesma no ambiente hormonal (LH, FSH, progesterona, estradiol e insulina). Finalmente, será apresentada a contribuição deste trabalho na forma de um resumo expandido e dois artigos científicos referentes ao estudo da nutrição sobre a função ovariana em caprinos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

GENERALIDADES

A atividade ovariana nos animais domésticos é influenciada pelos níveis nutricionais em vários estádios dos processos reprodutivos. Uma restrição dietética diminui o crescimento e atrasa o início da puberdade em cordeiros (Foster, 1994). A duração do período desde a parição até a primeira ovulação em vacas é ditada pelas interações entre consumo de nutrientes, mudança de peso, além da condição corporal do nascimento ao desmame (Jolly *et al.*, 1995). A ocorrência de desordens ovarianas como a quiescência ovariana e cistos ovarianos está associada com a condição nutricional durante o início do período de lactação em vacas leiteiras (Richard *et al.*, 1989). Contudo, os mecanismos fisiológicos para o controle nutricional da atividade reprodutiva são conhecidos somente parcialmente nos animais domésticos.

O anestro nutricional tem sido induzido em vacas (Richards *et al.*, 1989; Richards *et al.*, 1991) e porcas (Armstrong e Britt, 1987). Imakawa *et al.* (1986) reportaram que o anestro ocorreu em bovinos de corte 26,5 semanas após o início de uma dieta que fornecia metade dos requerimentos para manutenção, e que a falta de atividade luteal foi associada com 20% de perda de peso corporal. Da mesma forma, Johnson *et al.* (1987) demonstraram que 40% do requerimento energético para vacas leiteiras resultaram em 20% de perda de peso e anestro.

O anestro pode também ser causado por uma perda de peso nutricionalmente induzida em vacas (Richards *et al.*, 1989), ratas (Knuth e Friensen, 1983), hamster

(Printz e Greenwald, 1970) e na mulher (Frish, 1983). Em pequenos ruminantes, diversos estudos têm verificado os efeitos da restrição alimentar por longo período no metabolismo e no ambiente hormonal em ovelhas (Thomas *et al.*, 1990; Kile *et al.*, 1991; Adam *et al.*, 1997). Contudo, dados referentes aos mesmos parâmetros para caprinos são escassos.

NUTRIÇÃO E FUNÇÃO OVARIANA

NUTRIÇÃO E FOLICULOGÊNESE

Foi verificado um envolvimento da nutrição no processo de gametogênese (Scaramuzzi e Murray, 1994), bem como na seleção folicular (Scaramuzzi *et al.*, 1993). Entretanto, atualmente, as contribuições científicas nas espécies domésticas e de interesse zootécnico podem estar limitadas ao efeito nutricional como regulador ou moderador no processo de foliculogênese (Rhind, 1992; Scaramuzzi e Murray, 1994; Robinson, 1996). Em contrapartida, sabe-se que a disponibilidade de nutrientes é um importante regulador da atividade reprodutiva. Em ovelhas, fatores nutricionais podem afetar a reprodução animal no hipotálamo e hipófise, ovário ou útero (O'Callaghan e Boland, 1999). As informações a tal respeito são mais importantes se são referentes aos pequenos ruminantes, os quais são criados nos sistemas tradicionais mais difundidos no mundo, que antevêm longos períodos do ano em condições pobres de pasto e de limitada oferta nutricional (Peters e Horst, 1981; Delgadillo e Malpaux, 1996; Walkden-Brown e Restall, 1996).

Doney *et al.* (1982), em um estudo com a raça ovina Scottish Blackface, demonstraram como a taxa de ovulação é diretamente dependente das condições corpóreas e do peso vivo, mesmo se em uma menor proporção. No entanto, as diferenças na taxa de ovulação são conseqüências do processo de recrutamento folicular (Cahill *et al.*, 1979; Haresign, 1981; McNeilly *et al.*, 1987; Zhenzhong *et al.*, 1989), bem como de sua taxa de desenvolvimento (Fletcher, 1974).

Nos ovinos, o processo de desenvolvimento folicular, desde o momento de ativação e crescimento do folículo primordial até a ovulação, ocorre em um período médio de seis meses (Cahill e Mauléon, 1980). Os últimos estádios de crescimento são, entretanto, muito rápidos; pois os folículos em crescimento com cerca de 0,5 mm de diâmetro atingem 4 ou 5 mm de diâmetro em apenas 8 a 9 dias (Turnbull *et al.*, 1977). O efeito da nutrição sobre o desenvolvimento folicular a partir de 0,5 mm de diâmetro foi descrito por Fletcher (1974), que observou uma redução na taxa de ovulação em ovelhas expostas à desnutrição.

A ovulação ocorre seguinte a um período bem definido de crescimento e maturação do oócito. Durante os estádios iniciais, o crescimento folicular independe de gonadotrofinas (Dufour *et al.*, 1979); o suporte de FSH e LH é requerido pelo folículo para continuar o processo ovulatório e, por último permitir a retomada da meiose e ovulação. A regulação dessas ondas de crescimento folicular e ovulação é controlada pela interação entre as secreções hipofisárias de FSH e LH, e hormônios de origem ovariana, dentre os quais os mais relevantes são o estradiol, progesterona, inibina, e fatores de crescimento, tais como fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e prostaglandina $F_{2\alpha}$, de origem uterina (Rhind *et al.*, 1989).

Dufour *et al.* (1979) e, sucessivamente, Cahill e Mauléon (1980) estimaram em ovinos adultos, através da taxa mitótica das células da granulosa, em 70-80 dias como sendo o tempo necessário ao desenvolvimento do folículo secundário (cerca de 90 μ m) até o seu recrutamento nas ondas do ciclo sexual. Turnbull *et al.* (1977) e Cahill e Mauléon (1980), sempre trabalhando com animais adultos, estimaram em

cerca de 40 dias como sendo o período de crescimento dos folículos a partir da formação do antro (190 μm) até a ovulação.

Cahill e Mauléon (1980) ainda evidenciaram que a taxa de crescimento antes da formação do antro, foi inferior aos sucessivos estádios (mínimo de 120 dias), dados confirmados por outros autores em trabalhos efetuados com ratos (Hirshfield, 1989) e primatas (Gougeon, 1996). Dessa forma, sabe-se que os efeitos da nutrição sobre a foliculogênese inicial podem agir em um tempo menor, quando comparados ao tempo de crescimento médio. Os estudos efetuados, sejam com ratos (Lintern-Moore e Everitt, 1978; Lintern-Moore *et al.*, 1981), com camundongos (Nelson *et al.*, 1985), com cordeiros recém-nascidos (Rondina *et al.*, 2003), ou com cabras (Rondina, 1998), demonstraram uma substancial mudança no número de folículos primordiais em experimentos conduzidos por menos de 100 dias.

Com relação à espécie caprina, estudos específicos foram conduzidos sobre o efeito da condição nutricional na população de folículos ovarianos pré-antrais em fêmeas adultas SRD (Rondina, 1998). Em condições experimentais controladas, os animais foram expostos a um período de desnutrição, recriando assim, o estresse nutricional em que são normalmente expostos durante a estação seca no ambiente semi-árido do Nordeste brasileiro. Os resultados demonstraram como são complexas as estratégias adaptativas dos animais na distribuição e no uso dos nutrientes na foliculogênese. Os dados apresentados neste estudo mostram como a proliferação das células da granulosa é mais ativa nos animais com ótimo regime nutricional, mas, em contrapartida, os folículos primordiais e de transição dos animais desnutridos, recebem uma menor proporção de sinais de ativação e recrutamento, necessários para que os

folículos possam progredir para os estádios sucessivos de desenvolvimento folicular. Nos animais desnutridos, há ainda a tendência de conservação da reserva folicular primordial em baixo crescimento, que, ao contrário, está depletada na presença de uma adequada oferta alimentar.

Um segundo tipo de lógica adaptativa foi observada a partir da superação do obstáculo de ativação, onde a velocidade de proliferação das células da granulosa na fase mais evoluída de desenvolvimento folicular tende a coincidir com a fase na qual os animais normalmente estão em boa condição nutricional. Os animais desnutridos são ainda capazes de administrar o fluxo nutricional em dois planos: limitando o número de folículos que são ativados e que irão requerer um posterior esforço metabólico, e, paralelamente, destinando os nutrientes necessários aos estádios foliculares sucessivos mais exigentes do ponto de vista nutricional (Rondina, 1998).

Tais fenômenos podem ser interpretados como uma verdadeira estratégia de sobrevivência, já parcialmente revelada em roedores expostos a um quadro de desnutrição (Lintern-Moore e Everitt, 1978; Lintern-Moore *et al.*, 1981; Nelson *et al.*, 1985). A maior reserva folicular pode ser indicada como um mecanismo adaptativo, como acontece nas espécies de grandes dimensões que, em virtude de sua maior longevidade, possuem um número superior de folículos e os utilizam com mais consideração (Gosden e Telfer, 1987), ou como acontece nos ovinos nos períodos de anestro estacional (Cahill *et al.*, 1984).

NUTRIÇÃO E TAXA DE OVULAÇÃO

A capacidade da nutrição para alterar a taxa de ovulação e de parição de ovelhas está bem conhecida, onde um rápido aumento na condição corporal é usualmente associado a um aumento na taxa de ovulação e no tamanho da cria (Coop, 1966). Alterações na taxa de ovulação podem ser relatadas pela taxa de consumo de glicose em animais oriundos de um elevado plano de nutrição. Suplementos dietéticos contendo altos níveis de energia e proteína demonstraram elevar a taxa de ovulação em ovelhas (Downing *et al.*, 1995a). Similarmente, aumentos na taxa de ovulação foram reportados quando glicose foi infundida diretamente (Downing e Scaramuzzi, 1995b; Willians *et al.*, 1997). Portanto, isto é provável que uma suplementação energética por curto prazo está envolvida diretamente no recrutamento folicular e talvez também no crescimento folicular. Contudo, este efeito pode ser de curta duração quando o nível dietético é alterado.

A restrição dietética tem sido demonstrada alterar características do crescimento folicular em novilhas (Murphy *et al.*, 1991) e em ovelhas superovuladas (Yaakub *et al.*, 1997).

Embora a grande importância dos caprinos nas zonas tropicais, existe uma escassez de dados na literatura sobre a relação entre nutrição e reprodução. Durante a última década alguns trabalhos foram conduzidos em ambientes temperados utilizando cabras tratadas hormonalmente, focalizando os efeitos de alguns parâmetros reprodutivos da subnutrição aguda aplicada a curto prazo (Mani *et al.*, 1992, Mani *et al.*, 1996). As evidências destes estudos mostraram claramente os mecanismos pela

qual a nutrição a curto prazo influencia na reprodução de cabras. Porém, é bem conhecido que em áreas tropicais a maioria dos problemas reprodutivos é causada pela limitada disponibilidade de alimentos por longos períodos. A tabela 1 resume os principais resultados obtidos em poucos experimentos conduzidos nos trópicos e em região temperada.

Uma diminuição significativa no sucesso da sincronização do estro (Nº. de fêmeas em estro/tratadas) foi verificada quando o tratamento de restrição severa (0,25 M) foi aplicado durante vinte dias a partir do dia da inserção de esponjas impregnadas com FGA e injeção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Mani *et al.*, 1996), ou por sessenta dias (0,5 M) antes das injeções repetidas de cloprostenol (Kusina *et al.*, 2001). Neste experimento, Kusina *et al.* (2001) não registraram diferenças na eficiência da sincronização do estro em cabras alimentadas com uma exigência de energia de manutenção comparada com cabras alimentadas com duas vezes da exigência de manutenção. Estes resultados parecem indicar que a resposta à subnutrição por curtos ou médios períodos em cabras tratadas hormonalmente é mais afetada pela intensidade da restrição do que pela duração do tratamento nutricional. Infelizmente nenhuma evidência dos dados foi verificada para a suposição de uma interação entre protocolos hormonais e nutrição.

Tabela 1: Resultados da restrição nutricional em cabras com estro sincronizado: comparação entre estudos conduzidos em regiões temperadas e tropicais.

Parâmetros	Mani <i>et al.</i> , 1992	Mani <i>et al.</i> , 1996	Kusina <i>et al.</i> , 2001
Local do experimento	56°N 3°W (estação de cobrição)		18°S 31°E
Níveis de alimentação relativos à manutenção	0,25	0,25	0,50
Período de restrição alimentar	Curto (20 dias)	Curto (20 dias)	Médio (60 dias)
% Perda de peso corporal	11%	14%	12%
Protocolo de sincronização do estro	FGA + PGF _{2α}	FGA + PGF _{2α}	Cloprostenol
Cabras em estro	Não afetou	Reduziu	Reduziu
Início do estro	Atrasou	Não afetou	Atrasou
Taxa de ovulação	Reduziu	Reduziu	-
Fertilidade	Reduziu	-	Reduziu

Em regiões temperadas, cabras tratadas hormonalmente e submetidas a subnutrição severa por curto período comprometeram os seus picos pré-ovulatórios de gonadotrofinas, mas a restrição nutricional não interferiu nos níveis basais de FSH e LH (Mani *et al.*, 1996). Também a restrição dietética influenciou negativamente as concentrações de progesterona em curtos (Mani *et al.*, 1996) e médios períodos (Rondina, 1998). Uma diminuição das concentrações de progesterona pode ser uma

consequência da ausência de função luteal usualmente precedida pela falha de ovulação ou pela regressão prematura do corpo lúteo. A Figura 1 (acima) mostra ambos os casos em cabras locais do Nordeste do Brasil após trinta dias de restrição alimentar severa (0,5 M). No mesmo período de restrição foi possível observar fêmeas não estressadas com a função luteal normal (Figura 1, abaixo). Grandes variações individuais é freqüentemente reportada nos experimentos com cabras subnutridas e é provavelmente associada a resistência nesta espécie (Rondina, 1998).

Como também para outros ruminantes (Boland *et al.*, 2001, Diskin *et al.*, 2003), a relação entre nutrição e ovulação em cabras é evidente e envolve efeitos diretos e indiretos no recrutamento de folicular (Mani *et al.*, 1996; Selvaraju *et al.*, 2003). Uma melhor resposta ovariana foi verificada em cabras bem nutridas quando foi injetada insulina antes do tratamento de sincronização e de superovulação (Selvaraju *et al.*, 2003).

Murphy *et al.* (1991) reportaram que novilhas submetidas a um baixo consumo alimentar têm reduzido o tamanho e a persistência do folículo dominante comparado a animais submetidos a elevados planos energéticos. Uma restrição alimentar aguda (0,4 M) por cerca de doze dias diminui a taxa de crescimento e o maior diâmetro do folículo dominante, bem como induz falha do folículo dominante para ovular após luteólise induzida com prostaglandina (Mackey *et al.*, 1999). Vários estudos têm demonstrado que a alimentação lipídica alterou o padrão de crescimento de folículos e este efeito é independente do consumo energético (Mattos *et al.*, 2000). A suplementação lipídica aumenta o número de folículos (Beam e Butter, 1997; Lucy *et al.*, 1991), bem como o tamanho dos folículos pré-ovulatórios (Lucy *et al.*, 1990).

Este tamanho folicular aumentado pode ter efeitos benéficos na qualidade do oócito (Lonergan *et al.*, 1994) e função do corpo lúteo (Mattos *et al.*, 2000) resultando em elevadas taxas de prenhez.

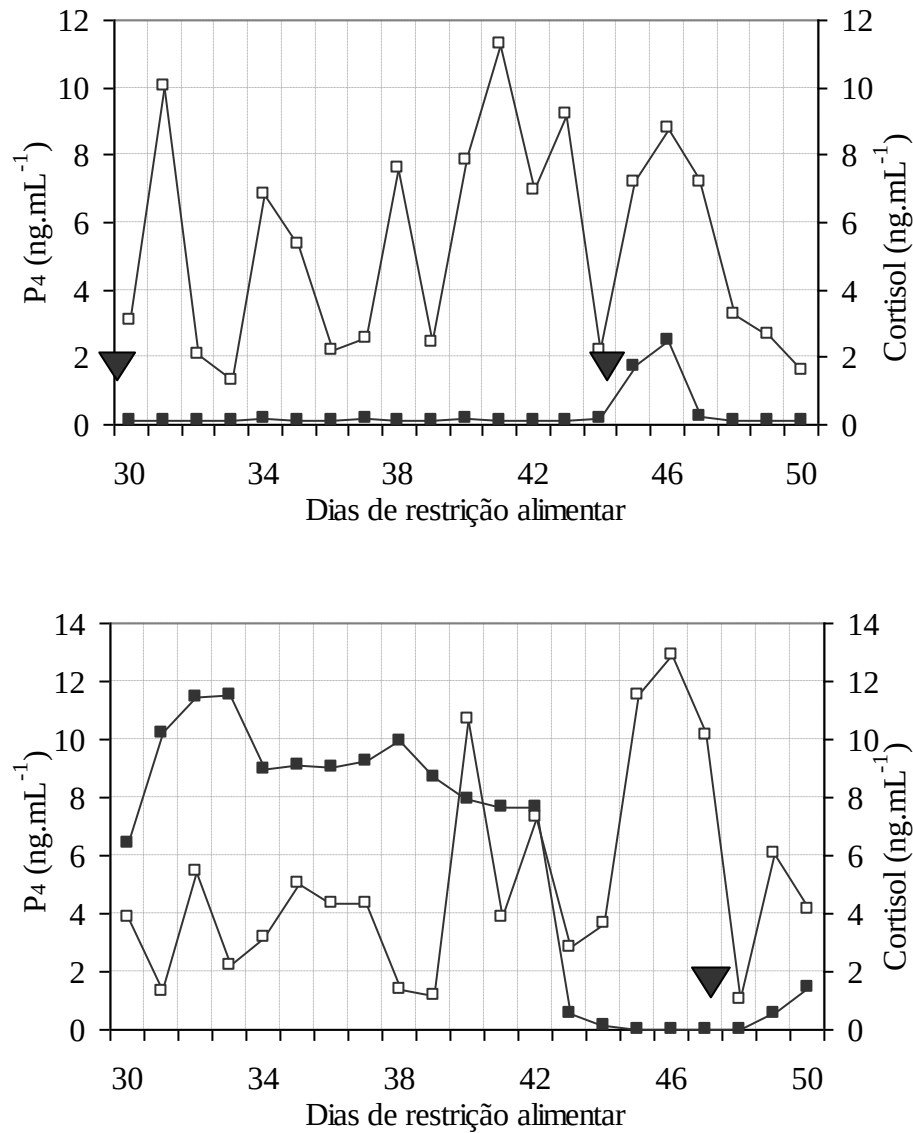


Figura 1: Concentrações de progesterona (P₄) (marcas pretas) e cortisol (marcas brancas) em cabras locais do Nordeste do Brasil (3°S, 38°W) após 30 dias de severa restrição alimentar (0,5 M) (acima e abaixo). Setas pretas indicam os dias que as fêmeas apresentaram estro. (Adaptado de Rondina, 1998).

No caso de vacas superovuladas, Nolan *et al.* (1999) reportaram um aumento no número de folículos após estimulação com FSH exógeno em vacas submetidas a um baixo plano alimentar comparadas com vacas submetidas a um alto plano alimentar. Esta diferença na resposta deveu-se a um aumento no número de folículos de 7 para 10 mm que mudaram de tamanho quando mensurados durante o período do pico de LH. Contudo, esta tendência não foi repetida quando as taxas de ovulação foram verificadas após a superovulação (Nolan *et al.*, 1999). No caso de ovelhas superovuladas com FSH, uma menor taxa de ovulação foi verificada em ovelhas submetidas a dietas com a metade dos requerimentos energéticos para manutenção (Yaakub *et al.*, 1997a). Em estudos posteriores, as taxas de ovulação de ovelhas superovuladas em dietas similares, porém utilizando uma diferente preparação de gonadotrofina não foram diferentes (Yaakub *et al.*, 1997b). Desta maneira, fica claro que o consumo dietético pode, sob determinadas condições, alterar as características de crescimento folicular. Contudo, o efeito do consumo alimentar no número de folículos em crescimento e na resposta a estimulação com dose fixa de FSH durante a superovulação é pouco consistente e assim, torna-se mais difícil traçar conclusões precisas.

NUTRIÇÃO E QUALIDADE OOCITÁRIA

Embora diferenças estruturais tivessem sido reportadas em oócitos oriundos de novilhas superovuladas quando comparadas com novilhas não estimuladas (Assey *et al.*, 1994), poucos estudos relatam efeitos da nutrição na qualidade oocitária em

detalhes. McEvoy *et al.* (1995) reportaram que uma alta proporção de oócitos oriundos de ovelhas submetidas a uma baixa dieta foram considerados viáveis quando comparados com aqueles produzidos em ovelhas em uma alta dieta. Em outros estudos foi determinado o efeito do consumo alimentar na morfologia de oócitos em ovelhas utilizando microscopia eletrônica (O'Callaghan *et al.*, 2000). Mudanças estruturais no grau de destacamento de grânulos intercromatinas dentro do núcleo do oócito foram observados a partir de ovelhas superovuladas comparadas com o grupo controle. Contudo, não foram verificadas diferenças na morfologia de oócitos colhidos a partir de ovelhas submetidas a um baixo plano alimentar (0,5 M) comparados a um elevado plano alimentar (2 M).

Em bovinos, o consumo energético restrito antes do abate aumenta o subsequente desenvolvimento *in vitro* de oócitos oriundos de pequenos folículos (McEvoy *et al.*, 1997). Yaakub *et al.* (1997) estimularam novilhas com FSH e as alimentaram com uma baixa (somente silagem) ou alta (silagem mais 6 Kg de concentrado) dieta antes do abate. A taxa de clivagem foi aumentada, embora diferenças não significativas fossem evidentes na taxa de formação *in vitro* de blastocistos oriundos de oócitos colhidos de vacas com baixa dieta. O principal problema com este tipo de experimento é a limitação no total do material disponível de um animal no abate. Outras pesquisas sugerem que a produção *in vitro* de blastocistos oriundos de oócitos colhidos durante várias semanas utilizando a técnica de *ovum pick-up*, pode ser elevado pela restrição do consumo alimentar de novilhas (Nolan *et al.*, 1998; Tabela 2). Isto sugere que a nutrição pode afetar a qualidade do oócito antes da ovulação.

Tabela 2: Efeito da quantidade da dieta no número médio ($\pm$ E.P.) de folículos, e taxa de formação de blastocistos oriundos de oócitos colhidos transvaginalmente e cultivados *in vitro*. As novilhas foram alimentadas a uma baixa (1 Kg/dia de concentrado mais 3 Kg de feno) ou alta (7 Kg/dia de concentrado mais feno a vontade) dieta diária.

Tratamento alimentar	Baixo	Alto
Número de novilhas	16	16
Número total de colheitas	72	72
Nº folículos aspirados por colheita	6,4 $\pm$ 0,4 ^a	7,5 $\pm$ 0,4 ^b
Nº oócitos recuperados por colheita	2,2 $\pm$ 0,2	2,3 $\pm$ 0,2
% de oócitos clivados (número)	73,0 (100/137) ^a	61,8 (97/157) ^b
% de blastocistos por oócito cultivado (nº)	24,1 (33/137) ^c	12,7 (20/157) ^d

Mesma linha a,b P < 0,05; c,d P < 0,01.

Fonte: Nolan *et al.*, 1998.

Kendrick *et al.* (1999) examinaram os efeitos do balanço energético e intervalo pós-parto na qualidade de oócitos durante a lactação de vacas leiteiras. Vacas alimentadas com dietas de alta energia têm menores folículos do que vacas alimentadas em dietas com baixa energia, porém vacas submetidas a dietas com elevados níveis de energia produzem melhores oócitos de boa qualidade. Esses resultados sugerem que a qualidade oocitária é influenciada pelo consumo alimentar, e o grau do efeito pode ser influenciado pelo período fisiológico e pela lactação. Isto ressalta a importância de se evitar severas mudanças na dieta no período pré-cobrição.

NUTRIÇÃO E CONTROLE HORMONAL DA FUNÇÃO OVARIANA

NUTRIÇÃO E SECREÇÃO DE GONADOTROFINAS

A condição energética é geralmente considerada como o principal fator que influencia o processo reprodutivo, com um baixo consumo energético prolongado prejudicando a fertilidade. Em ovelhas, uma nutrição deficiente, que resulta em menor taxa de ovulação, está associada com uma frequência diminuída do pulso de LH, sendo provavelmente devido à inadequada secreção hipotalâmica de GnRH (Rhind *et al.*, 1989). Em vacas, uma forte correlação entre o balanço energético negativo na lactação precoce e na retomada da ovulação pós-parto é evidente (Canfield e Butler, 1990). A ovulação pode não ocorrer em animais com baixos níveis nutricionais, porém o crescimento e atresia folicular podem ocorrer. Cada emergência de onda folicular sem ovulação é freqüentemente evidente no pós-parto de vacas de corte em baixas condições corporais (Stagg *et al.*, 1995). A significância prática desta ocorrência é um alongamento do intervalo do parto à primeira ovulação, e frequentemente uma extensão no intervalo da parição a concepção. A restrição alimentar por longo prazo tem provocado o anestro em vacas (Rhodes *et al.*, 1995), devido a insuficiente circulação de LH (Rhodes *et al.*, 1996). Esses efeitos, contudo, não são imediatamente evidentes e a restrição alimentar por vários meses pode ser necessária para impedir o crescimento folicular e ovulação.

Ao contrário da situação de monogástricos, efeitos de uma restrição alimentar por curto prazo nos níveis pulsáteis de LH são mais difíceis de serem observados em

ruminantes. Em ovelhas, uma restrição do consumo alimentar resultou em mudanças na secreção de LH (Abecia *et al.*, 1995) ou uma pequena redução relativa na frequência do pulso de LH (Rhind *et al.*, 1989a; Rhind *et al.*, 1989b) quando as dietas foram restringidas por aproximadamente 3 semanas. O FSH é essencial para o crescimento folicular e ovulação (Findlay e Clarke, 1987). Ainda existe pouca evidência de um efeito nutricional nas concentrações plasmáticas de FSH. Contudo, Mackey *et al.* (1997) demonstraram que a restrição alimentar a curto prazo por aproximadamente 40% dos requerimentos energéticos de manutenção elevou os níveis de FSH em novilhas comparados com aqueles que receberam dietas com duas vezes dos requerimentos para manutenção. Esta tendência foi repetida em novilhas ovariectomizadas submetidas a dietas semelhantes, sugerindo que os efeitos são mediados, pelo menos em parte, pelas mudanças na hipófise e não somente devido a alterações nos efeitos de *feedback* de esteróides. Diversas linhas de evidências sugerem que os efeitos nutricionais na reprodução são modulados pela seqüência pulsátil da secreção de LH a qual é controlada por um pulso gerador do GnRH no hipotálamo (Schillo, 1992; Foster *et al.*, 1998). Portanto, efeitos nutricionais na secreção de gonadotrofinas são relativamente escassos a menos que a restrição alimentar persista por longos períodos de tempo.

NUTRIÇÃO E PROGESTERONA

O consumo alimentar em ovelhas pode influenciar as concentrações de progesterona, com uma forte correlação negativa entre o consumo alimentar e

concentrações de progesterona (McEvoy *et al.*, 1995; Rhind *et al.*, 1989b). Este efeito do consumo alimentar na circulação de progesterona pode ser devido a um aumento na taxa de catabolismo de progesterona e na circulação hepática a elevados níveis alimentares (Parr *et al.*, 1993). A progesterona, através de seus efeitos de *feedback*, pode afetar a frequência do pulso de LH e tem também, através desse mecanismo, um importante papel na maturação oocitária e no desenvolvimento embrionário inicial (Kleemann *et al.*, 1994; McEvoy *et al.*, 1995).

Na ovelha, uma alimentação à vontade reduz consistentemente as concentrações de progesterona comparada a uma alimentação restrita (O'Callaghan *et al.*, 2000), mas os resultados em vacas indicam que este efeito é muito variável. Alimentação à vontade em novilhas aumentou (McCann e Hansel, 1986), diminuiu (Villa-Godoy *et al.*, 1990) ou não teve efeito (Spitzer *et al.*, 1978) nas concentrações de progesterona quando comparados com uma alimentação restrita. Baixos níveis de progesterona pós-cobrição pode reduzir a fertilidade (Larson *et al.*, 1997). Contudo, como os esteróides são seletivamente armazenados em gorduras, alguns regimes alimentares que resultam na mobilização de gordura pode resultar na liberação de progesterona estocada. Isto pode ocorrer para alguns aumentos de progesterona evidentes em animais submetidos a um baixo plano alimentar. Concentrações de progesterona e interferon-tau embrionário têm sido positivamente correlacionadas (Mann *et al.*, 1996). Portanto, pequenas mudanças nas concentrações maternas de progesterona durante o início do período de desenvolvimento embrionário podem alterar a secreção deste agente anti-luteolítico e pode ser crítico para a sobrevivência embrionária.

Em ovelhas, uma alta alimentação, que reduziu as concentrações de progesterona na circulação, também reduziu as taxas de prenhez (Parr *et al.*, 1987) e diminuiu as taxa de desenvolvimento e viabilidade embrionária (Creed *et al.*, 1994). Em vacas, Mann *et al.* (1996) reportaram que o período de elevação de progesterona após a ovulação é importante para o desenvolvimento do embrião. Esses autores demonstraram que o aumento atrasado de progesterona foi associado a um baixo e potencialmente menor número de embriões viáveis no dia 16. Experimentos em novilhas de corte demonstraram que o efeito prejudicial de uma redução aguda do consumo energético imediatamente após a inseminação na sobrevivência embrionária, falharam em encontrar uma associação entre a concentração precoce de progesterona no ciclo estral e sobrevivência embrionária (Dunne *et al.*, 1999). Concentrações periféricas de progesterona nos dias 0 e 1 após o pico de LH são importantes para a sobrevivência embrionária em ovelhas (Ashworth *et al.*, 1989). Isto presumivelmente modifica a maturação folicular e a qualidade oocitária. Contudo, outros estudos têm sugerido que o efeito da progesterona no desenvolvimento embrionário está agindo primariamente através do efeito da progesterona no útero (Abecia *et al.*, 1996; Lozano *et al.*, 1998). Concentrações aumentadas de progesterona durante a fase luteal antes e após a cobertura têm sido associadas com elevadas taxas de prenhez (Butler *et al.*, 1996). Todos esses resultados experimentais são baseados no estudo das concentrações periféricas de progesterona. Contudo, experimentos estudando o efeito da nutrição nas concentrações periféricas (jugular) e locais (veia ovariana e endométrio) de progesterona pode não demonstrar algumas relações entre essas mensurações (Abecia *et al.*, 1997; Lozano *et al.*, 1998). Portanto, o uso da concentração de progesterona na

veia jugular somente como um indicador do efeito da nutrição no desenvolvimento embrionário pode ser empregado com cautela, pois a sobrevivência embrionária pode ser mais relatada às concentrações de progesterona na veia ovariana e endométrio do que à concentração na circulação.

NUTRIÇÃO E ESTRADIOL

As concentrações médias de estradiol no início da quiescência ovariana foram menores do que as verificadas antes do início da restrição alimentar. Esses resultados sugerem que a quiescência ovariana nutricionalmente induzida (anestro) é originada com a deficiência da secreção de estradiol inibindo o pico pré-ovulatório de LH. Foi claramente demonstrado que a secreção de estradiol a partir de folículos foi regulada pela secreção pulsátil de LH durante a fase folicular em ovelhas (McMeilly *et al.*, 1984; Scaramuzzi *et al.*, 1970; Turek e Campbell, 1979). Imakawa *et al.* (1986) reportaram que o efeito supressivo da restrição alimentar no ciclo estral foi particularmente atribuído à diminuição na frequência dos picos de LH durante a fase folicular do ciclo estral de vacas.

O IGF-1 é enormemente influenciado pelo *status* nutricional e tem sido identificado estar envolvido na regulação da esteroidogênese e a expressão de receptores LH no ovário (Giudice, 1992). A disfunção dessas ações hormonais e metabólicas no ovário pode suprimir a secreção de estradiol na fase folicular sob condições de restrição alimentar.

NUTRIÇÃO, ESTERÓIDES E INSULINA

Mudanças alimentares causam uma alteração imediata na cadeia do metabolismo de agentes humorais. Os mais importantes desses, a partir de um ponto de vista nutricional, são a glicose e insulina. Mudanças na concentração de insulina são observadas pelas mudanças nas concentrações do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1). Em um modelo experimental usando grão de tremoço para elevar a taxa de ovulação em ovelhas, Downing *et al.* (1995a) sugeriram que a elevada taxa de ovulação resultou uma ação ovariana direta do aumento da disponibilidade de glicose. A infusão direta (endovenosa) de glicose pode elevar as taxas de ovulação (Downing *et al.*, 1995b) e resulta em um aumento constante nas concentrações de insulina. Portanto, os efeitos nutricionais na taxa de ovulação de ovelhas são especificamente mediados através do fluxo de glicose mediado pela insulina. De fato existem ovelhas que, quando colocadas em uma dieta com a metade dos seus requerimentos energéticos de manutenção e ofertado um adicional de 1,5 vezes de seus requerimentos energéticos como alimento ou em energia equivalente como uma infusão intravenosa de glicose, tiveram um aumento na taxa de ovulação similar ao de ovelhas com adequada suplementação alimentar ou energética com uma infusão de glicose (Williams *et al.*, 1997). Efeitos similares da dose glicogênica oral na taxa de ovulação foi também reportado (Rodríguez Iglesias *et al.*, 1996), embora a glicose fosse somente diferente a partir dos animais controles para as primeiras seis horas após o tratamento.

Esses resultados envolvem a glicose no controle da função ovariana, visto que a mesma é minuciosamente regulada pela insulina, e que também sugere um papel para a insulina como um mediador do fluxo de glicose no mecanismo de efeitos nutricionais no crescimento folicular, pelo menos em ovelhas. Contudo, a infusão constante de insulina pode reduzir a secreção de LH (Downing e Scaramuzzi, 1997) e isto envolve a insulina e, em particular, o balanço entre a insulina e glicose na regulação da função hipotalâmica-hipofisária.

3. JUSTIFICATIVA

Atualmente existem 767.930.400 caprinos no mundo (FAO, 2003). Cerca de 9,5 milhões de caprinos compõem o rebanho nacional, e deste total 93,2% estão presentes na região Nordeste (IBGE, 2002).

Os caprinos são uma espécie de elevada importância econômica para a produção de carne, leite e de pele em diversos países do mundo. Entretanto, apesar do seu reconhecido valor, há uma escassez de dados da literatura sobre os efeitos da nutrição sobre a reprodução desses animais. No que concerne à fisiologia da reprodução e aos seus mecanismos endócrinos, a literatura existente é essencialmente voltada à espécie ovina.

Tendo em vista a tendência do crescimento da exploração intensiva de caprinos, torna-se imprescindível o conhecimento dos fatores que controlam a eficiência reprodutiva desses animais.

Geralmente, a literatura existente sobre a espécie caprina está focalizada apenas sobre alguns aspectos da reprodução. Os dados publicados sobre a relação entre nutrição e reprodução envolvem animais com diferentes estados metabólicos (geralmente não definidos) e, como consequência, apresentam dificuldades quando são analisados em comparações posteriores (Scaramuzzi e Murray, 1994).

A influência do estado nutricional na função ovariana pode ser de grande importância na utilização das técnicas reprodutivas, tais como o isolamento

folicular, a maturação e fecundação *in vitro*, técnicas estas utilizadas com o objetivo de produzir embriões em projetos de melhoramento genético ou na formação de bancos de germoplasma.

4. HIPÓTESE CIENTÍFICA

Considerando-se que no Nordeste brasileiro é caracterizado por variações de oferta alimentar de acordo com dois períodos bem definidos (chuvoso e seco) os quais condicionam a exploração caprina nesta região, formulou-se a seguinte hipótese:

Em condições experimentais controladas o efeito da subnutrição e da posterior realimentação pode afetar a função ovariana em caprinos.

5. OBJETIVOS

Esta dissertação foi dividida em três capítulos e os objetivos geral e específicos estão descritos abaixo.

Geral

Verificar a influência da subnutrição e da realimentação sobre a função ovariana de cabras exploradas no Nordeste do Brasil.

Específicos

- Comparar a atividade estral de cabras adultas mestiças de Saanen x SRD submetidas à subnutrição e realimentação exploradas no Nordeste do Brasil;
- Verificar a resposta ao tratamento de sincronização do estro (ocorrência e taxa de ovulação) em caprinos submetidos a uma subnutrição crônica e realimentação;
- Verificar o desenvolvimento folicular ovariano em animais subnutridos e realimentados.

A seguir, será apresentada a contribuição deste trabalho na forma de três capítulos os quais referem-se a um resumo expandido (publicado em periódico nacional) e a dois artigos completos (o primeiro aceito e o segundo em fase final de redação).

6. CAPÍTULO 1

COMPORTAMENTO ESTRAL EM CABRAS MISTIÇAS DE SAANEN SUBMETIDAS À SUBNUTRIÇÃO CRÔNICA

*(Estrous behavior in crossbred Saanen goat submitted to long-term
undernutrition)*

Revista Brasileira de Reprodução Animal 27: 256-258, 2003

Comportamento estral em cabras mestiças de Saanen submetidas a subnutrição crônica

Paula N.R.O.¹, Lopes Junior E.S.¹, Teixeira D.I.A.¹, Lima Verde J.B.¹, Câmara.C.L¹,
Galeati G.², Freitas V.J.F.¹, Rondina D¹ *.

1 Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

2 Facoltà di Veterinaria, Università di Bologna, Bologna, Itália

Resumo

O objetivo deste trabalho foi comparar a atividade estral de cabras adultas mestiças de Saanen x SRD criadas no Nordeste do Brasil. Para tanto, 15 mestiças Saanen x SRD foram distribuídas em três tratamentos nutricionais : alto (A), baixo (B) e baixo + alto (BA). Foram anotados o peso corporal (PC), número de ciclos estrais e duração do ciclo. Embora as médias de PC nos grupos B e BA foi estatisticamente similar, a maior perda de peso foi observada no grupo B (22,82% do PC inicial). As médias de PC indicaram um efeito significativo do tratamento nutricional sobre o desempenho *in vivo* ($P < 0,05$). A deficiência nutricional aumentou a porcentagem de ciclos longos e curtos nos grupos B e BA. A duração do ciclo foi estatisticamente similar ($P > 0,05$), enquanto a duração do estro no grupo BA foi inferior ao grupo A e ao grupo B. Em conclusão, cabras sub-nutridas tem seu desempenho diminuído bem como apresentam alterações no comportamento estral.

Palavras-chaves: cabra, nutrição, reprodução

Introdução

O ambiente, particularmente a nutrição é a chave fundamental da função reprodutiva em ruminantes. A influência de nutrição pode ter efeitos deletérios no tamanho da ninhada sendo este um importante componente de produtividade na exploração comercial. Porém os efeitos nutricionais na eficiência reprodutiva de cabras são pouco compreendidos. Além disso, em áreas tropicais como o Nordeste do Brasil, estudos relativos à interação entre nutrição e reprodução em caprinos são bastante limitados. Vários autores (Simplicio, 1985; Chemineau, 1986; Cerbito *et al.*, 1995) verificaram que a precipitação e a subsequente disponibilidade de forragem podem causar efeitos prejudiciais na atividade ovulatória e estral em caprinos criados em condição de extensivas. Também a atividade estral de cabras pode ser alterada pelo ambiente em sistema intensivo (Lopes Júnior *et al.*, 2001). O objetivo deste trabalho foi comparar a atividade estral de cabras adultas mestiças de Saanen, criadas em área tropical do Nordeste do Brasil.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no setor de Caprino e ovinocultura da Universidade Estadual do Ceará. Para este estudo, quinze cabras mestiças Saanen x SRD foram usadas. Todas as cabras eram adultas e não prenhes. Elas possuíam idade e peso iniciais semelhantes (Tabela 1). Durante seis meses as cabras receberam capim elefante à vontade e concentrado para fornecer 200 e 70% dos requerimentos

energéticos e protéicos de manutenção do peso vivo, para os grupos Alto e Baixo, respectivamente (NRC, 1981). Finalmente o grupo de BA foi submetido a uma realimentação (1,5 M) durante 6 semanas. Um bode foi introduzido duas vezes diárias (09:00 e 16:00 h) na baia para detectar o comportamento de estro. A imobilização da fêmea quando montada pelo macho foi considerada o sinal de ocorrência de estro (Mauléon e Dauzier, 1965). Os ciclos estrais foram classificados de acordo com Chemineau *et al.* (1982). O estro das cabras foi sincronizado com esponjas vaginais impregnadas com 45 mg de FGA (Chrono-gest, Intervet, França) durante 11 dias. Todas as cabras também receberam injeções de intramusculares de 300 UI de eCG (Novormon, Tecnopec, Argentina) e 50 µg de cloprostenol (Ciosin, Coopers, Brasil) 48 h antes de remoção das esponjas. Todos os dados foram analisados usando SAS. O efeito do grupo (Alto, Baixo, Baixo+Alto) foi analisado através de procedimento de GLM. A comparação entre as médias dos grupos nutricionais foi executada através de teste de Duncan. As diferenças entre a proporção ou o número de ciclos estrais foi analisado através do Qui-quadrado. Os dados foram expressos como média ± E.P. e as diferenças foram estatisticamente significantes a $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

As médias de peso corporal (PC) indicaram um efeito significativo do tratamento nutricional no peso corporal dos grupos (Tabela 3, $P < 0,05$). Embora as médias de PC nos grupos B e BA foram estatisticamente semelhantes, a maior perda de peso foi registrada no grupo B (22,82% do PC inicial). Neste grupo 50% das cabras

não apresentaram estro após a remoção das esponjas. Em contraste, no grupo A todos os animais exibiram estro. Também o número de ciclos normais registrados nos grupos B e BA durante o experimento foi semelhante ao grupo A (8 vs 9, $P > 0,05$). Estes dados confirmaram o efeito da subnutrição estando dentro dos resultados relatados por Rondina (1998) em cabras subnutridas. Não obstante, no grupo BA a interação entre administração de gonadotrofina e o tratamento de *flushing* aplicado nas últimas seis semanas produziu uma resposta de estro em todos os animais após a sincronização.

Relativo à proporção de ciclos (Fig. 2) registrados durante o experimento, a deficiência nutricional apresentou um aumento na porcentagem de ciclos anormais nos grupos B e BA. Chemineau (1986) que trabalhou com cabras em Guadalupe demonstrou que uma baixa oferta de alimentos causa uma alteração na duração do ciclo.

As características de ciclo normal estão relatadas na Tabela 4. O comprimento do ciclo foi estatisticamente semelhante ($P > 0,05$), enquanto a duração de estro no grupo B foi menor que nos grupos A e BA. As médias de comprimento do estro no grupo A e BA estão de acordo com Foote *et al.* (1986), Camp *et al.* (1983) e Simplicio *et al.* (1982).

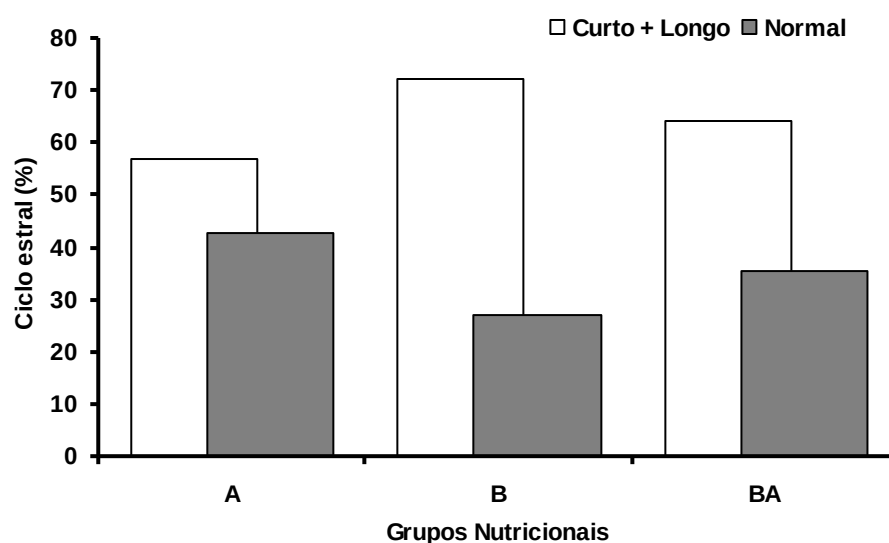


Figura 2: Proporção de ciclos estrais em cabras submetidas a diferentes planos nutricionais (A: alto, B: baixo, BA: baixo+alto).

Tabela 3: Média ($\pm$ E.P.) do peso corporal inicial e final (Kg) de cabras submetidas a diferentes planos nutricionais.

Grupo	Início	Final
Alto	26,30 $\pm$ 1,79	28,46 ^A $\pm$ 2,45
Baixo	22,22 $\pm$ 2,87	17,15 ^B $\pm$ 2,62
Baixo/Alto	22,72 $\pm$ 1,81	20,78 ^B $\pm$ 1,15

^{A,B,C} $P < 0,05$, comparação entre grupos.

Em conclusão, as cabras submetidas à subnutrição mostraram um desempenho insuficiente *in vivo* bem como anormalidades no comportamento estral.

Tabela 4: Média ($\pm$ E.P.) do ciclo estral e duração do estro, segundo o plano nutricional.

Grupo	Ciclo (dias)	Estro (h)
Alto	20,44 $\pm$ 0,77	48,00 ^A $\pm$ 8,71
Baixo	21,33 $\pm$ 0,33	16,00 ^B $\pm$ 4,00
Baixo/Alto	21,60 $\pm$ 1,08	43,20 ^A $\pm$ 10,46

^{A,B,C} $P < 0.05$, comparação entre grupos.

Referências

- Camp, J.C.; Wildt, D.E.; Howard, P.K. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biol. Reprod.*, v.28, p.673 -681, 1983.
- Cerbito, W.A.; Natural, N.G.; Aglibut, F.B. Evidence of ovulation in goats (*Capra hircus*) with short oestrus cycle and its occurrence in the tropics. *Theriogenology*, v. 43, p.803-812, 1995.
- Chemineau, P. Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. I. Female oestrous behaviour and ovarian activity. *Reprod. Nutr. Develop.*, v.26, p.441-452, 1986.
- Chemineau, P.; Gauthier, D.; Poirier, J.C. Plasma levels of LH, FSH, prolactin, oestradiol-17 β and progesterone during natural and induced oestrus in the dairy goat. *Theriogenology*, v.17, p.313-323, 1982.

Foote, W.C.; Riera, G.S.; Simplicio, A.A. Factors affecting reproduction. In: Goat and sheep in Northeast Brazil, 1. pp. 371 - 84. EMBRAPA-CNPA/SR-CRSP, Sobral, 1986.

Mauléon, P.; Dauzier, L. Variations de la durée de l'anoestrus de lactation chez les brebis de race Ile-de-France. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. V.5, p.131-143, 1965

NRC. Nutrient requirements of goat. National Academy of Sciences, Washington D.C., 91 pp. 1981.

Rondina, D. Effect of nutritional state on quantitative and qualitative development of ovarian preantral follicles in does SRD (*Capra hircus* L.). Doctorate Thesis, University of Florence, Italy. pp. 68., 1998.

Simplicio, A.A. Reproduction in three native genotypes of goats under two feeding management system in Northeast Brazil; and progesterone and luteinizing hormone profiles during the estrous cycle and seasonal anestrous in Spanish goats in the United States . Doctoral Thesis. Utah State University, Logan, Utah, 1985.

Simplicio, A.A.; Riera, G.S.; Nunes, J.F. Estrous cycle and period evaluation in an undefined breed type (SRD) for goats in Northeast Brazil. Proceedings III International Conference in Goat Production Production and Disease. Tucson Az. p. 310, 1982.

7. CAPÍTULO 2

RESPOSTA AO TRATAMENTO PROGESTÁGENO-eCG- CLOPROSTENOL EM CABRAS SUBMETIDAS A RESTRIÇÃO ALIMENTAR POR LONGO PERÍODO E REALIMENTADAS

*(Responsiveness to Progestagen-eCG-Cloprostenol Treatment in Goat Food
Restricted for Long Period and Refed)*

Reproduction in Domestic Animals (Aceito para publicação)

Resposta ao tratamento Progestágeno-eCG-Cloprostenol em cabras submetidas a restrição alimentar por longo período e realimentadas

Paula, N.R.O.¹, Galeati G.², Teixeira D.I.A.¹, Lopes Júnior, E.S.¹,

Freitas V.J.F.¹, Rondina D.^{1a}

¹ * Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

² Facoltà di Veterinaria, Università di Bologna, Ozzano de dell'Emilia, Bologna, Itália

* Instituto onde o trabalho foi conduzido

Resumo

Durante seis meses, dez cabras mestiças de Saanen foram submetidas a subnutrição (70% de manutenção), ao final cinco dessas cabras foram realimentadas durante seis semanas com 150% de manutenção. Em todos os animais o estro foi sincronizado utilizando esponjas vaginais impregnadas com 45 mg de FGA por 11 dias, 300 UI de eCG e 50 µg de cloprostenol 48 h antes de remoção das esponjas. A partir do início do estro, durante um período de 24 h, foram colhidas amostras de sangue para mensurações de estradiol e AGNE. A ovulação foi verificada através de laparoscopia três dias após a remoção das esponjas. A perda de massa corporal foi de $18,62 \pm 3,03\%$ do peso inicial e nas cabras realimentadas a recuperação do peso corporal foi de $90,63 \pm 3,56\%$. Os níveis de AGNE foram maiores nas cabras com alimentação restrita ($P < 0,05$). Cinquenta por cento das cabras subalimentadas (2/4) e todas as cabras realimentadas (4/4) exibiram estro e ovulação. Uma relação significativa ($P < 0,05$) foi verificada entre a perda de peso e o intervalo entre a remoção das esponjas e início do

estro ($R = 0.91$) ou taxa de ovulação ($R = 0,70$). Somente no grupo realimentado a taxa de ovulação foi relacionada com a quantidade de estradiol ($R = 0,99$) ($P < 0,05$). Coletivamente os resultados mostraram que um curto período de aumento na alimentação restabeleceu a resposta de sincronização do estro em cabras subnutridas cronicamente.

Palavras-chave: cabras, nutrição, reprodução, sincronização do estro

Introdução

A nutrição é uma chave fundamental para o controle de eficiência reprodutiva em cabras. Em muitas regiões áridas e tropicais como o Nordeste do Brasil, a oferta de alimentos é escassa por longos períodos do ano e é a causa principal da estacionalidade reprodutiva em cabras (Walkden-Brown e Restall 1996). Nestas áreas o uso de tratamento hormonal para a sincronização do estro e da ovulação é subordinado à disponibilidade de suplementação ou à condição corporal das fêmeas. Em cabras, o sucesso dos tratamentos de sincronização do estro foi afetado por uma severa restrição alimentar a curto (Mani *et al.*, 1992; Mani *et al.*, 1996) ou a médio (Kusina *et al.*, 2001) prazo. No entanto, estudos sobre os efeitos de períodos prolongados de restrição alimentar no tratamento de sincronização são escassos.

O objetivo deste estudo foi verificar a resposta do tratamento de sincronização do estro em cabras submetidas à subnutrição crônica e realimentadas.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual do Ceará localizada a 3°43' S e 38°30' W. Para este estudo foram utilizadas dez cabras Saanen x local, cíclicas, com semelhantes (média $\pm$ E.P.) peso vivo ($22,60 \pm 1,58$ kg) e idade ($1,8 \pm 0,19$ anos). As cabras foram agrupadas em duas baias ($n = 5$) e receberam capim picado com livre acesso a água e sal mineral. Durante seis meses, todas as cabras receberam capim elefante mais concentrado para manter 70% dos requerimentos energéticos e protéicos de manutenção do peso vivo (0,7 M: AFRC, 1998). Finalmente, cinco cabras escolhidas aleatoriamente foram realimentadas (1,5 M) durante seis semanas. Ao término de cada tratamento nutricional o estro foi sincronizado usando esponjas vaginais com 45mg FGA (Chrono-gest, Intervet, França) por 11 dias e injeções intramusculares de 300 IU de eCG (Novormon, Syntex, Argentina) e 50 μ g de cloprostenol (Ciosin, Coopers, Brasil), 48 h antes de retirada das esponjas.

A partir do início do estro, durante 24 h a intervalos de 2 h, foram colhidas amostras de sangue em tubos heparinizados, através de venopunção da jugular. A partir do plasma, o 17 β -estradiol foi mensurado como descrito por Tamanini *et al.* (1985) e os ácidos graxos não esterificados (AGNE) através de kits comerciais (Boehringer Mannheim, Milão, Itália). A ocorrência de ovulação foi verificada através de laparoscopia (Oldham e Lindsay, 1980) realizada 72 h após a remoção das esponjas. O efeito de nutrição (restrição alimentar, realimentação) foi analisado pelo procedimento GLM do SAS (SAS, Inc., EUA). A comparação entre as médias do

tratamento nutricional foi realizada pelo teste de *t*. As diferenças entre as proporções ou números foram analisadas através do teste do Qui-Quadrado. As correlações foram analisadas utilizando o teste de Pearson. Os valores foram expressos como média $\pm$ E.P.

Resultados

Durante o período de subnutrição, morreu um animal e outro foi descartado devido a uma infecção reprodutiva. Após seis meses de subnutrição, a perda de peso dos animais ($n = 8$) foi de $18,62 \pm 3,03\%$ do peso corporal inicial. Após seis semanas de suplementação alimentar, a média da recuperação do peso corporal foi de $90,63 \pm 3,56\%$. Os níveis de AGNE mensurados no início do estro (Fig. 3) foram maiores nas cabras subnutridas ($P < 0,05$). Neste grupo, 50% das cabras (2/4) não exibiram estro ou ovulação após o tratamento de sincronização de estro (Fig. 4). Ao contrário, todas as cabras realimentadas (4/4) apresentaram estro e ovulação. O intervalo entre a remoção das esponjas e estro, como também a taxa de ovulação, foram correlacionadas com a perda de peso (Fig. 4) ($R = 0,91$, $P < 0,05$ e $R = 0,70$, $P < 0,05$, respectivamente). A taxa de ovulação foi duas vezes maior nas cabras realimentadas em comparação com as cabras subnutridas ($3,00 \pm 0,71$ vs. $1,25 \pm 0,75$). Os níveis de estradiol detectados nos grupos estão apresentados na Figura 5. Uma correlação entre a taxa de ovulação e a quantidade total de estradiol somente foi verificada nas cabras realimentadas ($R = 0,99$, $P < 0,05$).

Discussão

Este estudo demonstrou que a subnutrição crônica tem um efeito prejudicial na resposta à sincronização do estro em cabras e que uma curta realimentação pode restabelecer a resposta das mesmas.

Foi verificado que a restrição alimentar crônica afetou negativamente a ocorrência de estro, o intervalo remoção das esponjas e início do estro, bem como a taxa de ovulação. A subnutrição moderada a longo prazo reduziu a resposta à sincronização do estro, semelhante ao reportado em cabras com alimentação restrita por curto (Mani *et al.*, 1994; Mani *et al.*, 1996) ou médio (Kusina *et al.*, 2001) prazo antes do tratamento hormonal.

Resultados mostraram que o intervalo entre remoção das esponjas ao início do estro e a taxa de ovulação tendeu a mostrar uma dependência da quantidade de massa corporal perdida durante a subnutrição. Uma relação positiva entre o peso corporal e a quiescência ovariana (ausência de estro e ovulação), induzidos através da restrição alimentar, foi demonstrada por Tanaka *et al.*, (2003) em cabras Shiba. Estes autores, apoiados em observações prévias (Tanaka *et al.*, 2002), sugerem que a quiescência ovariana induzida nutricionalmente inicia-se com a deficiência da secreção de estradiol, a qual inibe o pico pré-ovulatório de LH.

O balanço energético é um sinal metabólico particularmente eficiente para a fase final de maturação de folículo ovariano e assim para indução do estro e ovulação em ruminantes (Boland, 2001). Mani *et al.*, (1996) reportaram em cabras, após sincronização de estro, que a restrição nutricional alterou o pico pré-ovulatório de LH.

Em cabras da raça Mashona, sincronizadas com injeções repetidas de cloprostenol, Kusina *et al.* (2001) reportaram uma diminuição no estro sucessivo e na fertilidade do grupo restrito (0,5 M) comparado às cabras alimentadas com dieta a regime de manutenção.

Em nosso estudo, o protocolo de realimentação adotado foi suficiente para a recuperação da massa corporal perdida durante a subnutrição crônica e aumentou o número de cabras em estro. Nestes animais a taxa de ovulação e a secreção de estradiol aumentaram, o que foi provavelmente devido a uma ação combinada do suplemento de energia e administração de gonadotrofina.

Uma vantagem recíproca produzida pela associação entre melhorias alimentar e tratamento gonadotróficos foi reportada por O'Callaghan *et al.* (2000) em ovelhas sincronizadas mantidas a diferentes níveis de consumo alimentar. Neste estudo, as ovelhas estimuladas com pFSH mostraram um maior número de grandes folículos (> 3 mm) do que ovelhas não estimuladas. Em cabras superovuladas, Selvaraju *et al.* (2003) mostraram um aumento significativo na taxa de ovulação quando foi injetada insulina antes da sincronização do estro.

A realimentação ou *flushing* está associada com um aumento de insulina e IGF-1, que restabelecem a taxa de ovulação e aumentam a secreção de estradiol. Em bovinos, baixas concentrações plasmáticas de insulina podem reduzir a produção de estradiol e comprometer a habilidade dos folículos em adquirir receptores de LH (Diskin *et al.*, 2003). A capacidade do estradiol em induzir o pico pré-ovulatório de LH também é influenciada pelo *status* nutricional no pós-parto de vacas. Echternkamp

et al. (1982) verificaram que o estradiol induziu o pico de LH em vacas subnutridas mais tardiamente e com menores amplitudes do que em vacas bem alimentadas.

A partir dos resultados obtidos neste estudo, uma perspectiva prática foi introduzida para controlar a estação de cobrição em áreas tropicais caracterizadas por um longo período de escassez de alimentos. Tratamentos hormonais são utilizados para sincronizar o estro e assim facilitar a rotina de inseminação artificial em programas de melhoramento genético para melhorar a produtividade dos rebanhos caprinos. É aconselhável prover uma suplementação alimentar antes do tratamento com eCG-progestágeno para induzir a ovulação e reparar o dano produzido pela subnutrição crônica em cabras. Contudo pesquisas adicionais devem verificar a fertilidade de cabras submetidas aos mesmos programas nutricionais.

Agradecimentos

Esta pesquisa foi apoiada pela FUNCAP (n 004/01). Paula N.R.O. foi bolsista CAPES/Brasil. Freitas V.J.F. é pesquisador do CNPq/Brasil.

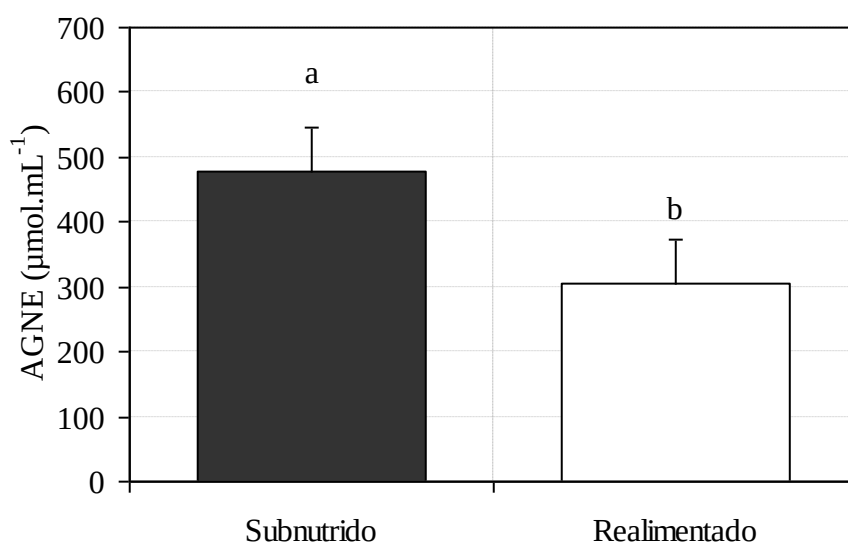


Figura 3: Níveis médios de AGNE ($\pm$ E.P.) no início do estro, após o tratamento de sincronização do estro, para os grupos subnutridos (coluna preta) e realimentados (coluna branca). a, b: $P < 0.05$.

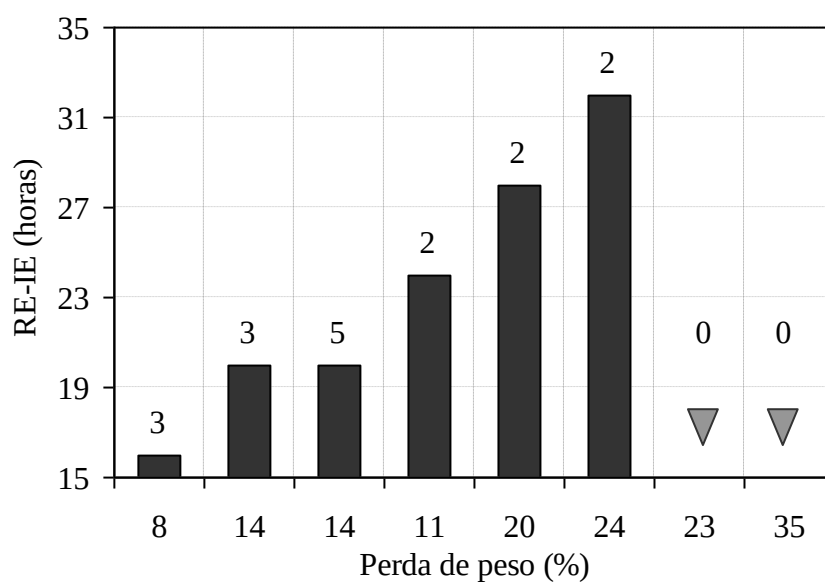


Figura 4: Intervalo remoção das esponjas e início do estro (RE-IE) (colunas), número de ovulações (número sobre as colunas marcadas) e perda de peso corporal (por cento) durante a restrição alimentar. As setas indicam quiescência ovariana (ausência de estro e ovulação). Cada coluna na figura representa uma cabra.

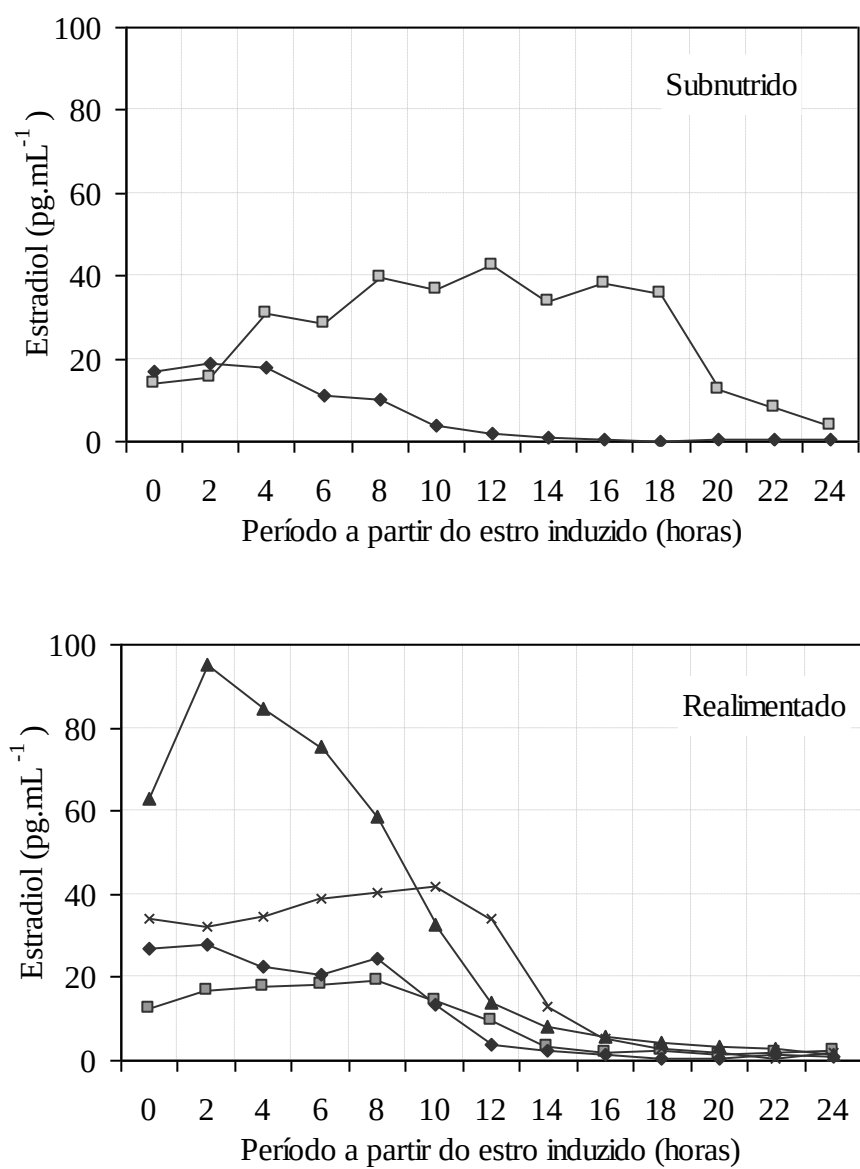


Figura 5: Níveis de estradiol de acordo com o período do início do estro em cabras subnutridas e realimentadas.

Referências

- AFRC, 1998: The nutrition of goats. CAB International, 118pp.
- Boland MP, Lonergan P, O'Callaghan D, 2001: Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* **55**, 1323-1340.
- Diskin MG, Mackey DR, Roche JF, Sreenan JM. 2003: Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci* **78**, 345-370.
- Echternkamp SE, Ferrell C, Rone J, 1982: Influence of prepartum and postpartum nutrition on LH-secretion in suckled postpartum beef heifers. *Theriogenology* **18**, 283-295.
- Kusina NT, Chinuwo T, Hamudikuwanda H, Ndlovu LR, Muzanenhano S, 2001: Effect of different dietary energy level intakes on efficiency of estrus synchronization and fertility in Mashona goat does. *Small Rum Res* **39**, 283-288.
- Mani AU, McKelvey WAC, Watson ED, 1992: The effects of low level of feeding on response to synchronization of estrus, ovulation rate and embryo loss in goats. *Theriogenology* **38**, 1013-1022.
- Mani AU, Watson ED, McKelvey WAC, 1994: The effects of subnutrition before of after embryo transfer on pregnancy rate and embryo survival in does. *Theriogenology* **41**, 1673-1678.
- Mani AU, McKelvey WAC, Watson ED, 1996: Effect of undernutrition on gonadotrophin profiles in non-pregnant, cycling goats. *Anim Reprod Sci* **43**, 25-33.

- O'Callaghan D, Yaakub H, Hyttel P, Spicer LJ, Boland MP, 2000: Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic hormone concentrations in ewes. *J Reprod Fert* **118**, 303-313.
- Oldham CM, Lindsay DR, 1980: Laparoscopy in the ewe - a photographic record of the ovarian activity of ewes experiencing normal or abnormal estrous cycles. *Anim Reprod Sci* **3**, 119-124.
- Tamanini C, Bono G, Cairoli F, Chiesa F, 1985: Endocrine responses induced in anestrus goats by the administration of different hormones after a fluorogestone acetate treatment. *Anim Reprod Sci* **9**, 357-364.
- Tanaka T, Akaboshi N, Inoue Y, Kamomae H, Kaneda Y, 2002: Fasting-induced suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion is related to body energy status in ovariectomized goats. *Anim Reprod Sci* **72**, 185-196.
- Tanaka, T, Yamaguchi, T, Kamomae, H, Kaneda, Y, 2003: Nutritionally induced body weight loss and ovarian quiescence in Shiba goats. *J Reprod Dev* **49**, 113-119.
- Selvaraju, S, Agarwal, SK, Karche, SD, Majumdar, AC, 2003: Ovarian response, embryo production and hormonal profile in superovulated goats treated with insulin. *Theriogenology* **59**, 1459-1468.
- Walkden-Brown, SW, Restall, BJ, 1996: Environmental and social factors affecting reproduction. In: VI International Conference of Goats, Beijing, pp. 762-775.

8. CAPÍTULO 3

DESENVOLVIMENTO FOLICULAR OVARIANO EM CABRAS ESTIMULADAS COM GONADOTROFINA SUBMETIDAS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR POR LONGO PRAZO E REALIMENTADAS

*(Development Ovarian Follicular in Goats Stimulated with
Gonadotropin Submitted to the Alimentary Restriction by Long
Period and Refed)*

**Desenvolvimento Folicular Ovariano em Cabras Estimuladas com
Gonadotrofina: Efeito da Restrição Alimentar por Longo Prazo e Posterior
Realimentação**

**Paula, N.R.O.¹, Galeati G.², Teixeira D.I.A.¹, Lopes Júnior, E.S.¹,
Freitas V.J.F.¹, Rondina D.¹**

¹ Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

² Facoltà di Veterinaria, Università di Bologna, Ozzano de dell'Emilia, Bologna, Itália

Resumo

O objetivo deste estudo foi verificar o desenvolvimento folicular ovariano em cabras estimuladas com gonadotrofina, após subnutrição crônica e realimentação. Por seis meses, dez cabras mestiças de Saanen foram submetidas à subnutrição (0,7 M), finalmente cinco cabras foram realimentadas durante seis semanas com 150% M. Em todos os animais o estro foi sincronizado utilizando esponjas vaginais impregnadas com 45 mg de FGA por 11 dias, 300 IU de eCG e 50 µg de cloprostenol 48 h antes de remoção das esponjas. A partir do início do estro, durante um período de 24 h, foram colhidas amostras de sangue para mensuração de AGNE e glicose. Foram realizadas análises histológicas com o intuito de determinar a densidade folicular, o crescimento folicular, bem como caracterizar a zona pelúcida e a teca interna. As perdas de massa corporal foram $18,62 \pm 3,03\%$ do peso inicial e nas cabras realimentadas a recuperação do peso corporal foi de $90,63 \pm 3,56\%$. Os níveis de AGNE e de glicose foram maiores nas cabras restritas ($P < 0,01$). Foi verificada uma concentração superior de folículos

primordiais e de folículos atresícos nas cabras após o período de restrição alimentar, além de um número estatisticamente superior ($P < 0,05$) na densidade de células da granulosa nas classes foliculares para os animais realimentados. Em conclusão, é a condição nutricional exerceu um efeito qualitativo e quantitativo na população folicular ovariana de caprinos, além de demonstrar ser um pré-requisito fundamental para o controle da atividade ovariana em cabras exploradas no Nordeste do Brasil.

Palavras-chave: nutrição, caprinos, desenvolvimento folicular ovariano.

Introdução

Caprinos têm sido criados no mundo inteiro em sistemas tradicionais que prevêm longos períodos do ano com condições pobres de pasto e de oferta limitada de nutrientes. Em baixas latitudes ($<25^\circ$), as populações nativas, na ausência de influências significantes ou de inibição fotoperiódicas (anestro estacional) submetem seu desempenho reprodutivo a fatores sociais e nutricionais (Walkden-Brown e Restall, 1996). A disponibilidade nutriente é um regulador fundamental da atividade da função ovariana, bem como do desenvolvimento folicular (Mani *et al.*, 1996; Selvaraju *et al.*, 2003). Doney *et al.* (1982) reportaram que a taxa de ovulação está relacionada diretamente ao estado nutricional. Resultados semelhantes foram verificados em cabras por outros autores (Boland *et al.*, 2001, Diskin *et al.*, 2003). Não obstante, as diferenças na taxa de ovulação são resultantes do efeito da nutrição no recrutamento de folicular (Yaakub *et al.*, 1997), o qual é o produto da iniciação e desenvolvimento do pool de folículos primordiais. Contudo, a literatura tem poucas

informações sobre o papel de nutrição na foliculogênese (Robinson, 1996). Assim o objetivo deste estudo foi avaliar o desenvolvimento folicular ovariano em cabras submetidas à restrição alimentar por longo prazo, realimentadas e posteriormente estimuladas com gonadotrofina.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Universidade Estadual do Ceará localizada a 3°43' S e 38°30' W. Para este estudo foram utilizadas dez cabras mestiças (Saanen x local), cíclicas, com (média $\pm$ E.P.) peso vivo ($22,60 \pm 1,58$ kg) e idade ($1,8 \pm 0,19$ anos) semelhantes. As cabras foram agrupadas em duas baias ($n = 5$) e receberam capim picado com livre acesso a água e sal mineral. Durante seis meses, todas as cabras receberam capim elefante mais concentrado para manter 70% dos requerimentos energéticos e protéicos de manutenção do peso vivo (0,7 M: AFRC, 1998). Finalmente, cinco cabras escolhidas aleatoriamente foram realimentadas (1,5 M) durante seis semanas. Ao término de cada tratamento nutricional o estro foi sincronizado usando esponjas vaginais com 45mg FGA (Chrono-gest, Intervet, França) por 11 dias e injeções intramusculares de 300 IU de eCG (Novormon, Syntex, Argentina) e 50 μ g de cloprostenol (Ciosin, Coopers, Brasil), 48 h antes de retirada das esponjas.

Após 72 h da retirada das esponjas amostras de sangue foram colhidas em tubos heparinizados por venopunção da jugular e a partir do plasma. Ácidos Graxos

Não-esterificados (AGNE) e glicose foram mensurados através de kits comerciais (Boehringer Mannheim, Milão, Itália).

Preparação dos ovários e classificação folicular

Os animais foram unilateralmente ovariectomizados. Um ovário (esquerdo ou direito escolhido aleatoriamente) foi removido assepticamente e colocado em solução Bouin. Imediatamente após a remoção do primeiro ovário foi administrada a colquicina (1 mg/kg de peso vivo, EV) foi administrada. Exatamente 2 horas após o tratamento com colquicina as cabras foram sacrificadas e o ovário remanescente foi alocado em solução Bouin. Estes foram então desidratados e embebidos em parafina líquida. A cada 5ª seção (8 μ m de espessura) foram corados com ácido periódico de Schiff (PAS) e contrastados com hematoxilina de Harris. Os folículos foram classificados pelo seu tamanho de acordo a classificação de Braw-Tal e Yossefi (1997) adaptada. Sete tipos ou classes foram denominados: primordial, transição, primário, pequeno pré-antral, grande pré-antral, pequeno antral e grande folículo antral.

Análise histológica

Folículos normais e atresícos com o núcleo do oócito visível foram contados. Para os folículos antrais foi utilizado como referência o maior diâmetro do oócito na seção transversal. A estimativa do número de folículos contados em todas as seções foram realizados pelo método de Fractionator (Gundersen et al., 1988).

Somente imagens de folículos normais, não-atresícos dos folículos em crescimento (> 70 μ m de diâmetro) de cada grupo nutricional foram capturadas ao

acaso no máximo de 60 X de ampliação com uma câmera digital (TK-C1381: JVC American Corp., Wayne, New Jersey, EUA) sob um microscópio (Eclipse 400: Nikon Instech Co., Ltd., Japan). A área dos folículos, oócitos e antro foram determinadas e os respectivos diâmetros foram obtidos utilizando um programa de computador (Image J 1.32j, National Institutes of Health, EUA). A espessura da camada de célula da granulosa foi determinada pela diferença entre os diâmetros do folículo e oócito. O número de células da granulosa foi determinado em imagens foliculares e para os pequenos e grandes folículos antrais foi estimado dividindo a área da granulosa pela média da área das células.

A imagem de uma de cada três seções do ovário foi capturada e a área do ovário foi determinada e a concentração folicular foi calculada dividindo o número de folículos estimados pela superfície total.

Zona pelúcida e teca interna

De 83 e 62 folículos dos grupos realimentado e subnutrido respectivamente foram avaliados quanto à presença da zona pelúcida (ZP) e desenvolvimento da teca interna (TI). O critério para avaliação foi realizado em base da reação positiva ao PAS e a definição da teca de acordo com Braw-Tal e Yossefi (1997).

Cálculo da taxa de crescimento

Para cada ovário 8-10 folículos das classes em crescimento foram escolhidos para avaliar o índice mitótico. Deste total de 186 folículos controle e 194 folículos tratados foram estudados. Para cada folículo, todas as células da granulosa em prófase

ou metáfase foram contadas. O índice mitótico foi calculado a partir do número de figures mitóticas contadas dividido pelo número total de células na seção transversal (mm^2) vezes a média da densidade celular (cels/mm^2).

Análise estatística

O efeito da nutrição (restrição alimentar e realimentação) foi analisado pelo procedimento GLM do SAS (SAS, Inc., EUA). A comparação entre as médias dos tratamentos nutricionais foi realizada através do teste t. Diferenças entre as proporções ou números foram analisadas pelo Qui-quadrado. Antes da análise estatística, o número dos folículos foi transformado em logarítimo. Os valores foram expressos em $\text{medis} \pm \text{E.P.}$

Resultados

Peso corporal e ensaios metabólicos

Foi verificada uma perda de peso corporal (PC) média de $18,62 \pm 3,03\%$ após a subnutrição induzida (Figura 6). Após este período, ao final da suplementação alimentar, foi observada uma recuperação média de PC de $90,63 \pm 3,56\%$.

As concentrações de AGNE ao sacrifício foram $325,60 \pm 50,68 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ (grupo realimentado) e $691,04 \pm 68,02 \mu\text{mol.mL}^{-1}$ (grupo subnutrido – $P < 0,01$) e de glicose foram $62,14 \pm 3,16 \text{ mg.dL}^{-1}$ (realimentado) vs. $44,75 \pm 9,69 \text{ mg.dL}^{-1}$ (subnutrido – $P < 0,01$).

Densidade da população folicular

Em relação aos folículos normais, verificou-se no grupo realimentado uma maior concentração de folículos de transição em relação às demais classes foliculares. Entretanto registrou-se uma concentração superior de folículos primordiais nas cabras após o período de restrição alimentar.

Em relação aos folículos atrésicos, o grupo subnutrido revelou uma maior concentração total quando comparado com as cabras submetidas à suplementação alimentar. A distribuição destes folículos em relação às diversas categorias (Tabela 5) indicou uma frequência superior de atresia nos folículos primordiais após desnutrição.

Crescimento Folicular

Multiplificação das células da granulosa

A fim de avaliar o processo de multiplicação das células da granulosa foi determinada a curva de regressão entre número de células da granulosa por folículos e a área da granulosa da maior secção transversal. Esta regressão foi utilizada também para estimar o número de células de cada classe. Na tabela 6 é possível verificar as principais características da granulosa em relação ao diâmetro folicular.

A densidade de células calculada pela regressão demonstrou um número estatisticamente superior ($P < 0,05$) nas classes foliculares para os animais realimentados. Os coeficientes de regressão para os folículos antes da formação do antro foram 3,82 e 2,74, bem como no surgimento do antro (7,29 vs. 6,06) e durante o crescimento da cavidade antral (11,84 vs. 9,78), para os grupos suplementado e subalimentado, respectivamente ($P < 0,01$).

Paralelamente a intensidade de proliferação da granulosa foi avaliada também através o cálculo do índice mitótico (Figura 7). Os valores registrados nas classes foliculares indicaram uma clara vantagem ($P < 0,05$) para o grupo realimentado nos folículos a partir da formação do antro (3,11 vs 2.18 $P < 0,01$).

Crescimento do antro e oócito

Nos dois grupos nutricionais o surgimento da cavidade antral foi verificado no intervalo entre 200 e 300 μm de diâmetro folicular. A fase inicial de crescimento do antro está representada na figura 8. A comparação da frequência de folículos com antro neste período indicou uma tendência no grupo subnutrido a ter 100% dos folículos com cavidade a um diâmetro inferior (300 μm) em relação aos animais submetidos à realimentação.

A partir de 400 μm de diâmetro folicular foi observado um aumento da cavidade antral no grupo que teve uma suplementação alimentar, porém não significativo (1,18 vs. 1,04; diâmetro do antro vs. diâmetro do folículo; $P=0,105$).

Na Figura 9 está ilustrado o crescimento dimensional do oócito registrado durante o experimento. Em ambos os grupos, um aumento significativo ($P < 0,05$) dos valores médios do diâmetro do oócito foi registrado a partir dos folículos primários. O grupo com restrição alimentar apresentou valores significativamente maiores ($P < 0,05$) nos folículos entre 100 e 1000 células da granulosa na secção transversal (grande folículos pré-antrais e pequenos folículos antrais, respectivamente).

Caracterização da Zona Pelúcida e Teca Interna

Os dados referentes à classificação da ZP e TI estão apresentados na tabela 7. Nesta tabela a intensidade da reação positiva ao PAS caracterizou a presença da ZP no folículo. Já a definição da TI foi relacionada com seu desenvolvimento. Para cada classe folicular foram comparadas as frequências entre os grupos. No entanto, não foram observadas diferenças significativas na classificação da ZP ou da TI para ambos os grupos, nas diferentes classes foliculares analisadas.

Discussão

Uma perda de peso corporal similar foi verificada por outros autores trabalhando com cabras (Tanaka *et al.*, 2003), vacas (Johnson *et al.*, 1987) e porcas (Armstrong e Britt, 1987) submetidas à restrição alimentar. Tanaka *et al.* (2004), verificaram também níveis de AGNE aumentados após o início da restrição alimentar, diminuindo gradualmente a nível basal no momento da supressão dos pulsos de LH e ovulação. Esta elevação da mobilização dos AGNE oriundos de adipócitos implicam um papel na elevação do requerimento energético através do sistema de beta-oxidação em vez do metabolismo de glicose. Alternativamente, o declínio gradual de AGNE, verificado por esses autores, sob condições de restrição alimentar presumivelmente indica a redução de reservas de gordura para a suplementação energética. Richards *et al.* (1989b) reportaram também uma redução nas concentrações de glicose antes do início do anestro, em vacas de corte submetidas a uma restrição alimentar.

No grupo realimentado, um menor número de folículos primordiais combinados a um maior número de folículos de transição está de acordo com a literatura (Cahill e Mauléon, 1981; Rondina *et al.*, 2004), onde é sugestivo uma maior intensidade no processo de ativação folicular do *pool* de primordiais durante o período de disponibilidade de nutrientes. Borwick *et al.* (1997) em cordeiras e Rondina (1998) em cabras, verificaram que um baixo estado energético diminuiu significativamente o mecanismo de ativação das reservas foliculares ovarianas.

Estudos em diferentes espécies têm demonstrado que a atresia ocorre predominantemente em folículos antrais (Hisfield, 1988), porém Driancourt *et al.* (1985) relataram que aproximadamente 50% dos folículos pré-antrais de ovelhas desaparecem antes de formarem a cavidade antral, estando de acordo com nossos dados referentes a uma maior concentração de folículos primordiais atrésicos no grupo subnutrido.

A maior densidade de células da granulosa verificada em nosso estudo nos animais realimentados está de acordo com Monniaux *et al.* (1984), trabalhando com novilhas, e verificando em folículos acima de 0,5 mm de diâmetro, que a média do número de células da granulosa por folículo, foi significativamente menor após tratamento com PMSG, e ainda que os folículos ovarianos normais removidos antes de injeções de PMSG possuíam um maior o índice mitótico de acordo com o aumento do tamanho folicular.

Um maior índice mitótico verificado no grupo realimentado em nosso estudo está de acordo com Monniaux *et al.* (1984), onde relatam que o índice mitótico dos folículos a partir da formação do antro foi menor antes das injeções de PMSG e

aumentaram duas vezes após estas injeções, sendo evidente a estimulação hormonal para folículos antrais e pré-antrais com 115-280 μm de diâmetro.

O surgimento da cavidade antral a partir de 200-300 μm verificada em nossa pesquisa está de acordo com a literatura existente em novilhas (Monniaux *et al.*, 1984), onde foi verificada uma relação linear entre o diâmetro folicular e do antro. Esses autores sugerem um efeito estimulatório do PMSG no crescimento da cavidade antral. Após o tratamento com PMSG a tendência foi para os folículos maiores apresentarem um maior antro e para os folículos menores um antro menor. De acordo com esses autores a cavidade antral não foi observada em folículos com diâmetros inferiores a 100 μm . Porém entre 180 e 330 μm a porcentagem de folículos com antro foi menor após tratamento com PMSG do que antes do tratamento.

Esta uniformidade não foi observada quando se trata de folículos oriundos de cabras subnutridas, onde foi verificada em nosso experimento uma maior velocidade de crescimento da cavidade antral entre 100 e 1000 células da granulosa. Outros autores (Braw-Tal e Yossefi, 1997), trabalhando com vacas, afirmaram que o início da formação do antro foi observada em folículos com no mínimo 250 células da granulosa visualizadas na maior secção transversal, e que a primeira mudança significativa no diâmetro do oócito foi observada em folículos contendo 41 a 60 células da granulosa, sendo que o oócito continuou a crescer rapidamente.

Os resultados referentes ao surgimento da zona pelúcida e teca interna estão de acordo com a literatura existente (Braw-Tal e Yossefi, 1997).

Em conclusão, é possível afirmar que o *status* nutricional pode exercer um efeito qualitativo e quantitativo na população folicular ovariana de caprinos. Em

adição, este trabalho demonstrou que a nutrição pode regular a transição de folículos primordiais para o estágio de crescimento e é um pré-requisito fundamental para o controle da atividade ovariana.

Referências

AFRC. The nutrition of goats. CAB International, 118pp, 1998.

Armstrong, J.D.; Britt, J.H. Nutritionally-induced anestrus in gilts: metabolic and endocrine changes associated with cessation and resumption of estrous cycles. J Anim Sci.; 65: 508-523, 1987.

Boland, M.P.; Lonergan, P.; O'Callaghan D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. Theriogenology 55, 1323-1340, 2001.

Borwick, S.C.; Rhind, S.M.; McMillen, S.R.; Racey, P.A. Effect of undernutrition of ewes from the time of mating on fetal ovarian development in mid gestation. Reprod. Fert. Develop. 9: 711-715, 1997.

Braw-Tal, R. & Yossefi, S. Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. J. Reprod. Fert. 109: 165-171, 1997.

Cahill, L.P.; Mauléon, P. A study of the population of primordial and small follicles in the sheep. J. Reprod. Fert. 61: 201-206, 1981.

Cahill, L.P.; Mauléon, P. Influence of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. J. Reprod. Fert.; 58, 321-328, 1980.

- Diskin, M.G.; Mackey, D.R.; Roche, J.F.; Sreenan, J.M. Effect of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*; 78: 345-370, 2003.
- Doney, J.M.; Gunn, R.G.; Horak, F. Reproduction. In: Sheep and Goat Production, Ed. Coop I.E., Elsevier, 1982.
- Driancourt, M.A.; Gibson, W.R.; Cahill, L.P. Follicular dynamics throughout the oestrus cycle in sheep. *Reprod. Nutr. Dev.*; 25: 1-15, 1985.
- Fletcher, I.C. An effect of previous nutritional treatment on the ovulation rate in Merino ewes. *Proceeding of the Australian Society of Animal Production*; 10: 261 – 264, 1974.
- Gundersen, H.J.G.; Bagger, P.; Bendtsen, T.F.; Evans, S.M.; Korbo, L.; Marcussen, N.; Moller, A.; Nielsen, K.; Nyengaard, J.R.; Pakkenberg, B.; Sorensen, F.B.; Versteby, A.; West, M.J. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in the pathology research and diagnosis. *APMIS*, 96: 857-881, 1988.
- Hisfield, A.N. Development of follicles in the mammalian ovary. *International Review of Cytology*; 124: 43-99, 1991.
- Johnson, M.S.; Wegner, T.N.; Ray, D.E. Effect of elevating serum lipids on luteinizing hormone response to gonadotrophin releasing hormone challenge in energy-deficient anestrus heifers. *Theriogenology*.; 27: 421-429, 1987.
- Mani, A.U.; McKelvey, W.A.C.; Watson, E.D. Effect of undernutrition on gonadotrophin profiles in non-pregnant, cycling goats. *Anim. Reprod. Sci.*; 43:25-33, 1996.

Monniaux, D.; Mariana, J.C.; Gibson, W.R. Action of PMSG on follicular populations in the heifer, *J. Reprod. Fert.*; 70: 243-253, 1984.

Richards, M.W.; Wettemann, R.P.; Schoenemann, H.M. Nutritional anestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity. *J Anim Sci.*; 67: 1520-1526, 1989.

Robinson J.J. Nutrition and reproduction. *Anim. Reprod. Sci.*, 42, 25 - 34.

Rodríguez Iglesias, R.M.; Ciccioli, N.H.; Irazoqui, H.; Giglioli, C. 1996. Ovulation rate in ewes after single oral glucogenic dosage during a ram-induced follicular phase. *Animal Reproduction Science*; 44: 211-221, 1996.

Rondina, D. Effect of nutritional state on quantitative and qualitative development of ovarian preantral follicles in does SRD (*Capra hircus* L.). Doctorate Thesis, University of Florence, Italy. pp. 68., 1998.

Rondina, D.; Amorin, C. A.; Mafucci A.; Conti S.; Cecchi R.; Freitas, V. J. F.; Martini A.; Paula, N.R.O.; Giorgetti A. Preantral follicular development in massesse lambs born in two seasons of the year. *Small Rum. Res.* In Press., 2004.

Selvaraju, S.; Agarwal, S.K.; Karche, S.D.; Majumdar A.C. Ovarian response, embryo production and hormonal profile in superovulated goats treated with insulin. *Theriogenology*; 59: 1459-1468, 2003.

Tanaka, T.; Fujiwara, K.I.; Kim, S.; Kamomae, H.; Kaneda, Y. Ovarian and hormonal responses to a progesterone-releasing controlled internal drug releasing treatment in dietary-restricted goats. *Animal Reproduction Science*; 84: 135-146, 2004.

Tanaka, T.; Yamaguchi, T.; Kamomae, H.; Kaneda, Y. Nutritionally induced body weight loss and ovarian quiescence in Shiba goats. *J Reprod Dev*; 49: 113-119, 2003.

Turnbull, K.E.; Braden, A.W.H.; Mattner, P.E. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. *Aust. J. Biol. Sci.*; 30: 229 – 241, 1977.

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

Yaakub, H.; O'Callaghan, D.; O'Doherty, J.V.; Hyttel, P. Effect of dietary intake on follicle numbers and oocyte morphology in unsuperovulated and superovulated ewes. *Theriogenology*; 47: 182 abst., 1997.

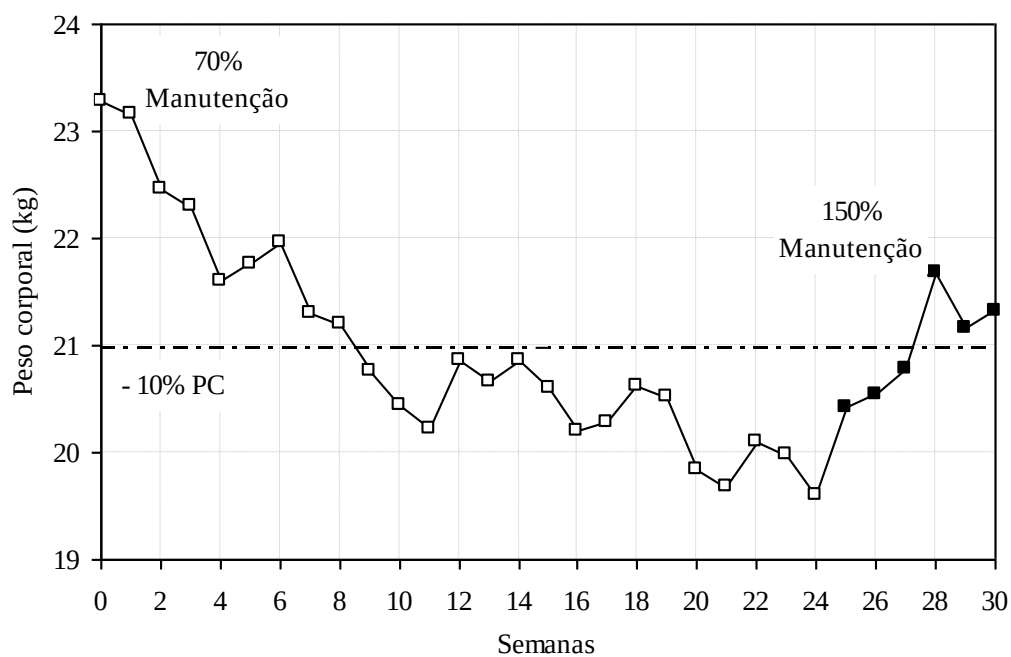


Figura 6. Peso corporal (PC) verificado semanalmente durante o experimento. Os quadrados marcados representam o período de realimentação.

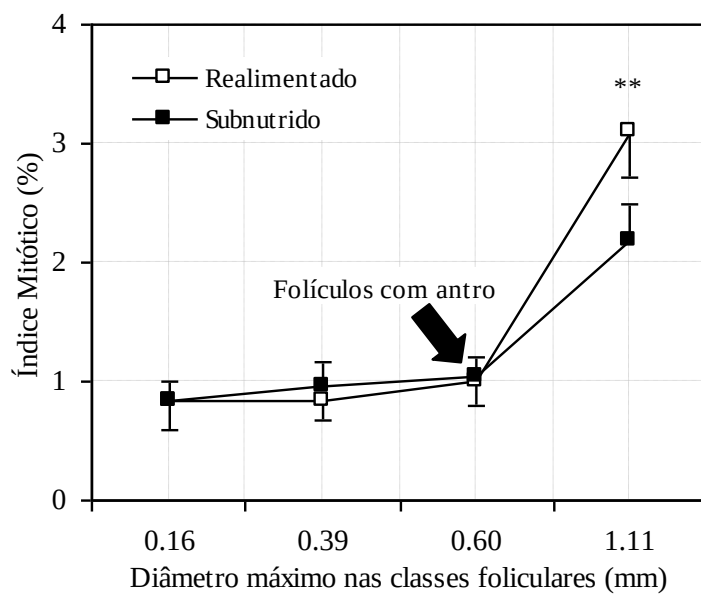


Figura 7. Representação do índice mitótico ($\pm$ E.P.) por classes para os folículos tratados com colchicina. ** $P < 0.05$.

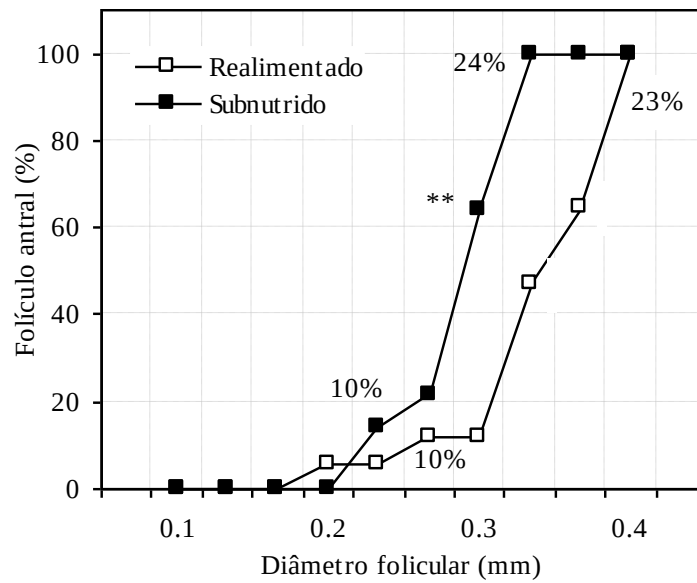


Figura 8. Relação entre o tamanho dos folículos e a porcentagem dos que continham um antro distinto. Porcentagens representam o volume do folículo ocupado pela cavidade.

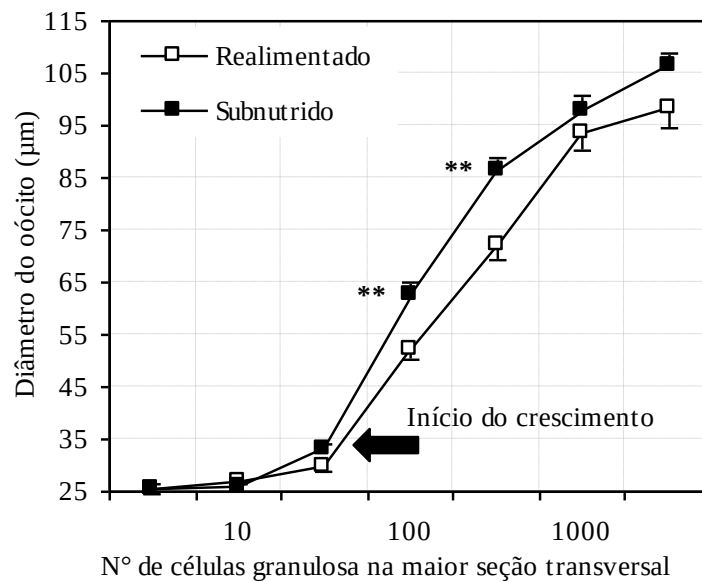


Figura 9. Diâmetro do oócito nos folículos com diferentes números de células da granulosa. Valores expressos em média $\pm$ E.P. ** $P < 0,05$.

Tabela 5. Concentração media de folículos normais (N / mm²) e atresicos (%).

Classes foliculares	Normal (N / mm ²)				Atrésicos (%)			
	Restrito	Realm.	E.P.	Sig	Restrito	Realm.	E.P.	Sig
Primordial	10,58	6,99	1,80		61,59	42,00	9,80	**
Transição	7,60	16,19	4,29	**	28,70	38,00	4,65	
Primário	0,88	0,61	0,14		2,59	5,33	1,37	
Pequeno Pré-antral	0,26	0,13	0,06		3,19	4,67	0,74	
Grande Pré-antral	0,10	0,08	0,01		1,59	5,33	1,90	
Pequeno antral	0,11	0,08	0,02		2,19	2,00	0,09	
Grande antral	0,14	0,10	0,02		0,14	2,67	1,26	
Total (N / mm ²)	19,68	24,17	2,25		3,10	0,50	1,30	**

** P < 0.05

Tabela 6. Classificação e caracterização dos folículos em diferentes classes de tamanhos.

Classe folicular	N	Diâmetro		Densidade celular		Diâmetro da seção		Nº estimado de	
		(mm)		(cel/mm ²)		transversal da granulosa		células	
		Sub.	Real.	Sub.	Real.	Sub.	Real.	Sub.	Real.
Pequeno Pré-antral	65	0,116	0,104	13316	13476	0,097 ± 0,005	0,090 ± 0,004	95	75
Grande Pré-antral	34	0,207	0,218	12500	13699	0,187 ± 0,007	0,204 ± 0,017	349	497
Pequeno antral	39	0,312	0,377	12821	13158	0,274 ± 0,014	0,328 ± 0,019	785	1179
Grande antral	48	0,639	0,699	13889	14925	0,441 ± 0,023	0,480 ± 0,024	2248	2871

Tabela 7. Presença da zona pelúcida e definição da teca interna nos folículos.

		Zona Pelúcida						Teca Interna					
		+		++		+++		+		++		+++	
Classes foliculares	N	Sub.	Real	Sub.	Real	Sub.	Real	Sub.	Real	Sub.	Real	Sub.	Real
Pequeno Pré-antral	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Grande Pré-antral	21	19%	38%	24%	14%	-	-	24%	43%	19%	14%	-	-
Pequeno antral	21	-	-	33%	57%	10%	-	-	-	38%	57%	5%	-
Grande antral	20	-	-	15%	15%	30%	40%	-	-	-	15%	45%	40%

Classificação modificada de acordo com Braw-Tal e Yossefi (1997).

** P < 0.05.

9. CONCLUSÃO GERAL

Cabras submetidas à subnutrição mostram um desempenho insuficiente *in vivo* bem como um comportamento estral alterado. Além disso, uma suplementação alimentar mostra-se necessária, antes do uso de tratamentos hormonais, para restaurar os mecanismos regulatórios da ovulação dos danos produzidos pela subnutrição crônica.

De acordo com as observações histológicas realizadas, pode-se também afirmar que o processo de subnutrição ocasiona uma alteração no processo de foliculogênese, bem como reduz o número de folículos aptos a ovular em cabras exploradas no Nordeste do Brasil.

10. PERSPECTIVAS

Os resultados deste estudo forneceram informações para a melhoria do manejo nutricional em cabras exploradas no Nordeste do Brasil. No entanto, tornam-se necessários estudos referentes à comprovação da fertilidade, bem como a avaliação do desempenho produtivo e reprodutivo após o nascimento até a puberdade, de fêmeas submetidos à subnutrição crônica e a uma posterior realimentação.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abecia, J.A.; Lozano, J.M.; Forcada, F.; Zarazaga, L. Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day eight of pregnancy in Rasa Aragonesa ewes. *Anim Reprod Sci*; 48: 209- 218, 1997.

Abecia, J.A.; Rhind, S.M.; Bramley, T.A.; McMillen, S.R. Steroid production and LH receptor concentrations of ovarian follicles and corpora lutea and associated rates of ova wastage in ewes given high and low levels of food intake before and after mating. *Anim Sci*; 61: 57-62, 1995.

Abecia, J.A.; Rhind, S.M.; Goddard, P.J.; McMillen, S.M.; Ahmadi, S.; Elston, D.A. Jugular and ovarian venous profiles of progesterone and associated endometrial progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant ewes. *Anim Sci*; 63: 229-234, 1996.

Adam, C.L.; Findlay, P.A.; Kyle, C.E.; Mercer, J.G. Effect of chronic food restriction on pulsate luteinizing hormone secretion and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in castrate male sheep. *J Endocrinol*; 152: 329-337, 1997.

AFRC. The nutrition of goats. CAB International, 118pp, 1998.

Armstrong, J.D.; Britt, J.H. Nutritionally-induced anestrus in gilts: metabolic and endocrine changes associated with cessation and resumption of estrous cycles. *J Anim Sci*; 65: 508-523, 1987.

Ashworth, C.J.; Sales, D.I.; Wilmut, I. Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. *J Reprod Fertil*; 87: 23-32, 1989.

Assey, R.J.; Hyttel, P.; Roche, J.F.; Boland, M.P. Oocyte structure and follicular steroid concentrations in superovulated versus unstimulated heifers. *Mol Reprod Devel*; 39: 8-16, 1994.

Beam, S.W.; Butler, W.R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod*; 56: 133-142, 1997.

Boland, M.P.; Lonergan, P.; O'Callaghan D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* 55, 1323-1340, 2001.

Borwick, S.C.; Rhind, S.M.; McMillen, S.R.; Racey, P.A. Effect of undernutrition of ewes from the time of mating on fetal ovarian development in mid gestation. *Reprod. Fert. Develop.* 9: 711-715, 1997.

Braw-Tal, R. & Yossefi, S. Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. *J. Reprod. Fert.* 109: 165-171, 1997.

Butler, W.R.; Calaman, J.J.; Beam, S.W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J Anim Sci*; 74:858-865, 1996.

Cahill, L.P.; Mariana, J.C.; Mauléon, P. Total follicular population in ewes of high and low ovulation rates. *J. Reprod. Fertil.*; 55, 27 - 36, 1979.

Cahill, L.P.; Mauléon, P. Influence of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. *J. Reprod. Fert.*; 58, 321-328, 1980.

Cahill, L.P.; Mauléon, P. A study of the population of primordial and small follicles in the sheep. *J. Reprod. Fert.* 61: 201-206, 1981.

- Cahill, L.P.; Oldham C.M.; Cognie Y.; Ravault J.P.; Mauleon P. Season and photoperiod effects on follicles and atresia in the sheep ovary. *Aust. J. Biol. Sci.*; 37: 71 – 77, 1984.
- Camp, J.C.; Wildt, D.E.; Howard, P.K. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biol. Reprod.*; 28:673 -681, 1983.
- Cantfield, R.W.; Butler, W.R. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Dom Anim Endocr*; 7: 323-330, 1990.
- Cerbito, W.A. ; Natural, N.G. ; Aglibut, F.B. Evidence of ovulation in goats (*Capra hircus*) with short oestrus cycle and its occurrence in the tropics. *Theriogenology* ; 43: 803-812, 1995.
- Chemineau, P. Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. I. Female oestrous behaviour and ovarian activity. *Reprod. Nutr. Develop.*; 26 :441-452, 1986.
- Chemineau, P.; Gauthier, D.; Poirier, J.C. Plasma levels of LH, FSH, prolactin, oestradiol-17 β and progesterone during natural and induced oestrus in the dairy goat. *Theriogenology*; 17: 313-323, 1982.
- Coop, I.E. Effect of flushing on reproductive performance of ewes. *Journal of Agricultural Science*. 67: 305-323, 1966.
- Creed, J.; McEvoy, T.G.; Robinson, J.J.; Aitken, R.P.; Palmer, R.M.; Robertson, I. The effect of preovulatory nutrition on the subsequent development of superovulated sheep ova in an in vitro culture system. *Anim Prod*; 58: 82. abst, 1994.
- Delgadillo, J.A.; Malpaux, B. Reproduction of goats in the tropics and subtropics. *Proceedings 6th Int. Conf. On Goats*. Beijing 5 - 11 May., pp. 785 – 793, 1996.

- Diskin, M.G.; Mackey, D.R.; Roche, J.F.; Sreenan, J.M. Effect of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*; 78: 345-370, 2003.
- Doney, J.M.; Gunn, R.G.; Horak, F. Reproduction. In: Sheep and Goat Production, Ed. Coop I.E., Elsevier, 1982.
- Downing, J.A.; Joss, J.; Connell, P.; Scaramuzzi, R.J. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes fed lupin grain. *Journal of Reproduction and Fertility.*; 103: 137-145, 1995.
- Downing, J.A.; Joss, J.; Scaramuzzi, R.J. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophic and metabolic hormones in ewes infused with glucose during the late luteal phase of the oestrus cycle. *Journal of Endocrinology.*; 146: 403-410, 1995.
- Downing, J.A.; Scaramuzzi, R.J. The effect of infusion of insulin during the luteal phase of the estrous cycle on the ovulation rate and on plasma concentrations of LH, FHS and glucose in ewes. *Theriogenology*; 47: 747-759, 1997.
- Driancourt, M.A.; Gibson, W.R.; Cahill, L.P. Follicular dynamics throughout the oestrus cycle in sheep. *Reprod. Nutr. Dev.*; 25: 1-15, 1985.
- Dufour, J.; Cahill, L.P.; Mauleon P. Short and long-term effects of hypophysectomy and lateral ovariectomy on follicular population in sheep. *J. Reprod. Fertil.*; 57: 301-309, 1979.
- Dunne, L.D.; Diskin, M.G.; Boland, M.P., O'Farrell, K.J.; Sreenan, J.M. The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. *Anim Sci*; 69:411-417, 1999.

Echternkamp, S.E.; Ferrell, C.; Rone, J. Influence of prepartum and postpartum nutrition on LH-secretion in suckled postpartum beef heifers. *Theriogenology*; 18: 283-295, 1982.

FAO. Food & Agriculture Organization of the United Nations, Statistical Series. Rome, Italy, 2001.

Findlay, J.K.; Clarke, I.J. Regulation of the secretion of FSH in domestic ruminants. *J Reprod Fertil; Suppl.* 34:27-37, 1987.

Fletcher, I.C. An effect of previous nutritional treatment on the ovulation rate in Merino ewes. *Proceeding of the Australian Society of Animal Production*; 10: 261 – 264, 1974.

Foote, W.C.; Riera, G.S.; Simplicio, A.A. Factors affecting reproduction. In: *Goat and sheep in Northeast Brazil*, 1. pp. 371 - 84. EMBRAPA-CNPA/SR-CRSP, Sobral, 1986.

Foster, D.L. Puberty in the Sheep. In: Knobil E, Neill JD (eds.), *The Physiology of Reproduction*. 2nd ed II. New York: Raven Press; 411-452, 1994.

Foster, D.L.; Nagatani, S.; Bucholtz, D.C.; Tsukamura, H.; Tanaka, T.; Maeda, K.I. Link between nutrition and reproduction: signals, sensors and pathways controlling GnRH secretion. In: Hansel, W., McCann, S. (Eds.), *nutrition and Reproduction*. LSU Press, Baton Rouge, pp. 59-80, 1998.

Frish, R.E. Body composition and the onset of puberty: Effects of undernutrition and physical exercise. In: Flamigni C, Venturoli S, Givens R (eds.), *Adolescence in females*. Chicago: Year Book Medical Publishers; 131-152, 1983.

Giudice, L.C. Insulin-like growth factors and ovarian follicular development. *Endocr Rev.*; 13: 641-669, 1992.

Gosden, R.G.; Telfer E. Numbers of follicles and oocytes in mammalian ovaries and their allometric relationship. *J. Zool. Lond.*; 211: 169 – 175, 1987.

Gougeon, A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr. Rev.*, 17: 121-155, 1996.

Gundersen, H.J.G.; Bagger, P.; Bendtsen, T.F.; Evans, S.M.; Korbo, L.; Marcussen, N.; Moller, A.; Nielsen, K.; Nyengaard, J.R.; Pakkenberg, B.; Sorensen, F.B.; Versteby, A.; West, M.J. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in the pathology research and diagnosis. *APMIS*, 96: 857-881, 1988.

Haresign W. The influence of nutrition on reproduction in the ewes. I. Effects of ovulation rate, follicle development and luteinizing hormone release. *Anim. Prod.*; 32: 197-202, 1981.

Hirshfield, A.N. Granulosa cell proliferation in very small follicles of cycling rats studied by long-term continuous tritiated-thymidine infusion. *Biol. Reprod.*; 41: 309-316, 1989.

Hisfield, A.N. Development of follicles in the mammalian ovary. *International Review of Cytology*; 124: 43-99, 1991.

Imakawa, K.; Day, M.L.; Garcia-Winder, M.; Zalesky, D.D.; Kittok, R.J.; Schanbacher, B.D.; Kinder, J.E. Endocrine changes during restoration of estrous cycles following induction of anestrus by restricted nutrient intake in beef heifers. *J Anim Sci.*; 63: 565-571, 1986.

Johnson, M.S.; Wegner, T.N.; Ray, D.E. Effect of elevating serum lipids on luteinizing hormone response to gonadotrophin releasing hormone challenge in energy-deficient anestrus heifers. *Theriogenology*; 27: 421-429, 1987.

Jolly, P.D.; McDougall, S.; Fitzpatrick, L.A.; Macmillan, K.L.; Entwistle, K.W. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *J Reprod Fertil Suppl.*; 49: 477-492, 1995.

Kendrick, K.W.; Bailey, T.L.; Garst, A.S.; Pryor, A.W.; Ahmadzadeh, A.; Akers, R.M.; Eyestone, W.E.; Pearson, R.E.; Gwazdauskas, F.C. Effects of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating holstein cows using transvaginal follicular aspiration. *J Dairy Sci*; 82 : 1731 – 1740, 1999.

Kile, J.P.; Alexander, B.M.; Moss, G.E.; Hallford, D.M.; Nett, T.M. Gonadotropin-releasing hormone overrides the negative effect of reduced dietary energy on gonadotropin synthesis and secretion in ewes. *Endocrinology*; 128: 843-849, 1991.

Kleemann, D.O.; Walker, S.K.; Seamark, R.F. Enhanced fetal growth in sheep administered progesterone during the first three days of pregnancy. *J Reprod Fertil*; 102: 411-417, 1994.

Knuth, U.A.; Friensen, H.G. Starvation induced anoestrus: effect of chronic food restriction on body weight, its influence on oestrus cycle and gonadotrophin secretion in rats. *Acta Endocrinol (Copenh)*; 104: 402-409, 1983.

Kusina, N.T.; Chinuwo, T.; Hamudikuwanda, H.; Ndlovu, L.R.; Muzanenhamo, S. Effect of different dietary energy level intakes on efficiency of estrus synchronization and fertility in Mashona goat does. *Small Rum. Res.*; 39: 283-288, 2001.

- Larson, S.F.; Butler, W.R.; Currie, W.B. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *J Dairy Sci*; 80: 1288-1295, 1997.
- Lintern-Moore, S.; Everitt A.V. The effect of restricted feed intake on the size and composition of the ovarian follicle population in the Wistar rat. *Biol. Reprod.*; 19: 688 – 691, 1978.
- Lintern-Moore, S.; Everitt, A.V.; Mariana, J.C.; Mauléon P. The effect of restricted food intake and refeeding on the ovarian follicle population on the pre-puberal Wistar rat. *Reprod. Nutr. Dev.*; 21: 611 – 620, 1981.
- Lonergan, P; Monaghan, P; Rizos, D; Boland, M.P.; Gordon, I. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization and culture in vitro. *Mol Reprod Dev*; 37: 48-53, 1994.
- Lozano, J.M.; Abecia, J.A.; Forcada, F.; Zarazaga, L.; Alfaro, B. Effect of undernutrition on the distribution of progesterone in the uterus of ewes during the luteal phase of the estrous cycle. *Theriogenology*; 49: 539-546, 1998.
- Lucy, M.C.; Gross, T.S.; Thatcher, W.W. Effect of intravenous infusion of soybean oil emulsion on plasma concentrations of 15-keto-13,14-dihydro-prostaglandin F₂ and ovarian function in cycling Holstein heifers. In: *Intemat Atom Energy Agency Livestock Reprod in Latin America*; 119- 132, 1990.
- Lucy, M.C.; Staples, C.R.; Michel, F.M.; Thatcher, W.W. Effect of feeding calcium soaps to early post-partum dairy cows on plasma prostaglandin F₂ α , luteinizing hormone and follicular growth. *J Dairy Sci*; 74: 483-489, 1991.

Mackey, D.R.; Sreenan, J.M.; Roche, J.F.; Diskin, M.G. Effect of acute restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. *Biol Reprod*; 61: 1601-1607, 1999.

Mackey, D.R.; Sreenan, J.M.; Roche, J.F.; Diskin, M.G. Effects of acute change in energy intake on plasma FSH concentration in beef heifers, with or without endogenous steroid influence. *J. Reprod. Fert. Abst.*; 57 abst., 1997.

Mani, A.U.; McKelvey, W.A.C.; Watson, E.D. Effect of undernutrition on gonadotrophin profiles in non-pregnant, cycling goats. *Anim. Reprod. Sci.*; 43:25-33, 1996.

Mani, A.U.; McKelvey, W.A.C.; Watson, E.D. The effects of low level of feeding on response to synchronization of estrous, ovulation rate and embryo loss in goats. *Theriogenology*, 38: 1013-1022, 1992.

Mani, A.U.; Watson, E.D.; McKelvey, W.A.C. The effects of subnutrition before or after embryo transfer on pregnancy rate and embryo survival in does. *Theriogenology*; 41: 1673-1678, 1994.

Mattos, R.; Staples, C.R.; Thatcher, W.W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews Reprod*; 5: 38-45, 2000.

Mauléon, P.; Dautier, L. Variations de la durée de l'anoestrus de lactation chez les brebis de race Ile-de-France. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*; 5: 131-143, 1965.

Mc Neilly, A.S.; Jonasson, J.A.; Rhind, S.M. Reduced ovarian follicular development as a consequence of low body condition in ewes. *Acta Endocrinol.*, 115: 75 – 83, 1987.

McCann, J.P.; Hansel, W. Relationship between insulin and glucose metabolism and pituitary-ovarian functions in fasted heifers. *Biol Reprod*; 34 : 630- 641, 1986.

McEvoy, T.G.; Robinson, J.J.; Aitken, R.P.; Findlay, P.A.; Palmer, R.M.; Robertson, I.S. Dietary-induced suppression of pre-ovulatory progesterone concentrations in superovulated ewes impairs the subsequent in vivo and in vitro development of their ova. *Anim Reprod Sci*; 39: 89-107, 1995.

McEvoy, T.G.; Sinclair, K.D.; Staines, M.E.; Robinson, J.J.; Armstrong, D.G.; Webb, R. *In-vitro* blastocyst production in relation to energy and protein intake prior to oocyte collection. *J Reprod Fertil; Abst Ser 19*: 132 abst., 1997.

McMeilly, A.S.; Fraser, H.M.; Baird, D.T. Effect of immunoneutralization of LH releasing hormone on LH, FSH and ovarian steroid secretion in the preovulatory phase of the oestrus cycle in the ewe. *J Endocrinol.*; 101: 213-219, 1984.

Monniaux, D.; Mariana, J.C.; Gibson, W.R. Action of PMSG on follicular populations in the heifer, *J. Reprod. Fert.*; 70: 243-253, 1984.

Murphy, M.G.; Enright, W.J.; Crowe, M.A.; McConnell, K.; Spicer, L.J.; Boland, M.P.; Roche, J.F. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility.*; 92: 333-338, 1991.

Nelson, J.F.; Gosden, R.G.; Felicio L.S. Effect of dietary restriction on estrous cyclicity and follicular resources in aging C57BL/6J Mice. *Biol. Reprod.*; 32: 515–522, 1985.

Nolan, R., Duf, Q.P.; Wade, M.; O’Callaghan, D.; Boland, M.P. Effect of quantity and type of diet and frequency of trans-vaginal ovum aspiration on in-vitro embryo development in heifers. *Theriogenology*; 49: 402 abst., 1998.

Nolan, R; O'Callaghan, D; Duby, R.T.; Lonergan, P.; Boland, M.P. The influence of short-term nutrient changes on follicle growth and embryo production following superovulation in beef heifers. *Theriogenology*; 50: 1263-1274, 1999.

NRC. Nutrient requirements of goat. National Academy of Sciences, Washington D.C., 91pp, 1981.

O'Callaghan, D.; Boland, M. P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *Anim. Sci.*; 68: 299-314, 1999.

O'Callaghan, D.; Lozano, J.M.; Fahey, J.; Gath, V.; Snijders, S.E.M.; Boland, M.P. Recent developments in the effect of nutrition on fertility in dairy cows. *Atti della Societa Italiana di Buiatria*. XXXII 9-19, 2000.

O'Callaghan, D.; Yaakub, H.; Hyttel, P.; Spicer, L.J.; Boland, M.P. Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic hormone concentrations in ewes. *J Reprod Fert*; 118: 303-313, 2000.

Oldham, C.M.; Lindsay, D.R. Laparoscopy in the ewe - a photographic record of the ovarian activity of ewes experiencing normal or abnormal estrous cycles. *Anim Reprod Sci*; 3: 119-124, 1980.

Parr, R.A.; Davis, I.F.; Fairclough, R.J.; Miles, M.A. Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. *J Reprod Fertil*; 80: 317-320, 1987.

Parr, R.A.; Davis, I.F.; Miles, M.A.; Squires, T.J. Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Res Vet Sci*; 55 : 311-316, 1993.

Peters, J.K.; Horst P. Development potential of goat breeding in the tropics and subtropics., *Anim. Reprod. Dev.*; 14: 55 – 71, 1981.

Printz, R.H.; Greenwald, G.S. Effects of starvation on follicular development in the cyclic hamster. *Endocrinology*; 86: 290-295, 1970.

Rhind S.M. Nutrition: its effects on reproductive performance and its hormonal control in female sheep and goats. *Progress in sheep and goat research*. Ed. Speedy A.W., 25 – 54, 1992.

Rhind, S.M.; McMillen, S.; McKelvey, W.A.C.; Rodriguez-Herrejon, F.F.; McNeilly, A.S. Effect of the body condition of ewes on the secretion of LH and FSH and the pituitary response to gonadotrophin-releasing hormone. *J Endocrinol*; 120: 497-502, 1989a.

Rhind, S.M.; McMillen, S.; Wetherill, G.Z.; McKelvey, W.A.C.; Gunn, R.G. Effects of low levels of food intake before and/or after mating on gonadotrophin and proesterone profiles in greyface ewes. *Anim Prod*; 49: 267-273, 1989b.

Rhodes, F.M.; Entwistle, K.W.; Kinder, J.E. Changes in ovarian function and gonadotropin secretion preceding the onset of nutritionally induced anestrus in *Bos indicus* heifers. *Biol Reprod*; 55: 1437-1443, 1996.

Rhodes, F.M.; Fitzpatrick, L.A.; Entwistle, K.W.; De'ath, G. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *J Reprod Fertil*; 104: 41-49, 1995.

Richards, M.W.; Wettemann, R.P.; Schoenemann, H.M. Nutritional anestrus in cows: concentrations of glucose and nonesterified fatty acids in plasma and insulin in serum. *J Anim Sci*; 67: 2354-2362, 1989.

Richards, M.W.; Wettemann, R.P.; Schoenemann, H.M. Nutritional anestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity. J Anim Sci.; 67: 1520-1526, 1989.

Richards, M.W.; Wettemann, R.P.; Spicer, L.J.; Morgan, G.L. nutritional anestrus in beef cows: effects of body condition and ovariectomy on serum luteinizing hormone and insulin-like growth factor-I. Biol Reprod.; 44: 961-966, 1991.

Robinson J.J. Nutrition and reproduction. Anim. Reprod. Sci., 42, 25 - 34.

Rodríguez Iglesias, R.M.; Ciccioli, N.H.; Irazoqui, H.; Giglioli, C. 1996. Ovulation rate in ewes after single oral glucogenic dosage during a ram-induced follicular phase. Animal Reproduction Science; 44: 211-221, 1996.

Rondina, D. Effect of nutritional state on quantitative and qualitative development of ovarian preantral follicles in does SRD (*Capra hircus* L.). Doctorate Thesis, University of Florence, Italy. pp. 68., 1998.

Rondina, D.; Amarin, C. A.; Mafucci A.; Conti S.; Cecchi R.; Freitas, V. J. F.; Martini A.; Paula, N.R.O.; Giorgetti A. Preantral follicular development in massesse lambs born in two seasons of the year. Small Rum. Res. In Press., 2004.

SAS. SAS user's guide statistic. SAS Inst., Inc., Cary, NC., 2001.

Scaramuzzi, R.J.; Adams, N.R.; Baird, D.T.; Campbell, B.K.; Downing, J.A.; Findlay, J.K.; Henderson, K.M.; Martin, G.B.; McNatty K.P.; McNeilly A.S.; Tsonic C.G. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. Reprod. Fert. Dev.; 5: 459-478, 1993.

Scaramuzzi, R.J.; Caldwell, B.V.; Moor, R.M. Radioimmunoassay of LH and estrogen during the estrous cycle of the ewe. Biol Reprod.; 3: 110-119, 1970.

Scaramuzzi, R.J.; Murray, J.F. The nutrient requirements for the optimum production of gametes in assisted reproduction in ruminant animals. X^o Réunion A.E.T.E. 9-10 September 1994 - Lyon (France), 85-103, 1994.

Schillo, K.K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J Anim Sci.*; 70: 1271-1282, 1992.

Selvaraju, S.; Agarwal, S.K.; Karche, S.D.; Majumdar A.C. Ovarian response, embryo production and hormonal profile in superovulated goats treated with insulin. *Theriogenology*; 59: 1459-1468, 2003.

Simplicio, A.A. Reproduction in three native genotypes of goats under two feeding management system in Northeast Brazil; and progesterone and luteinizing hormone profiles during the estrous cycle and seasonal anestrous in Spanish goats in the United States . Doctoral Thesis. Utah State University, Logan, Utah, 1985.

Simplicio, A.A.; Riera, G.S.; Nunes, J.F. Estrous cycle and period evaluation in an undefined breed type (SRD) for goats in Northeast Brazil. Proocedings III International Conference in Goat Production Production and Disease. Tucson Az. p. 310, 1982.

Spitzer, J.C.; Niswender, G.D.; Seidel, G.E.Jr.; Wiltbanck, J.N. Fertilization and blood levels of progesterone and LH in beef heifers on a restricted energy diet. *J Anim Sci.*; 46: 1071-1077, 1978.

Stagg, K.; Diskin, M.G.; Sreenan, J.M.; Roche, J.F. Follicular development in long-term anoestrus suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Animal Reproduction Science*, 38: 46-61, 1995.

- Tamanini, C.; Bono, G.; Cairoli, F.; Chiesa, F. Endocrine responses induced in anestrous goats by the administration of different hormones after a fluorogestone acetate treatment. *Anim Reprod Sci.*; 9: 357-364, 1985.
- Tanaka, T.; Akaboshi, N.; Inoue, Y.; Kamomae, H.; Kaneda, Y. Fasting-induced suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion is related to body energy status in ovariectomized goats. *Anim Reprod Sci.*; 72: 185-196, 2002.
- Tanaka, T.; Yamaguchi, T.; Kamomae, H.; Kaneda, Y. Nutritionally induced body weight loss and ovarian quiescence in Shiba goats. *J Reprod Dev*; 49: 113-119, 2003.
- Tanaka, T.; Fujiwara, K.I.; Kim, S.; Kamomae, H.; Kaneda, Y. Ovarian and hormonal responses to a progesterone-releasing controlled internal drug releasing treatment in dietary-restricted goats. *Animal Reproduction Science*; 84: 135-146, 2004.
- Thomas, G.B.; Mercer, J.E.; Karalis, T.; Rao, A.; Cummins, J.T., Clarke, I.J. Effect of restricted feeding on the concentrations of growth hormone (GH), gonadotropins, and prolactin (PRL) in plasma, and on the amounts of messenger ribonucleic acid for GH, gonadotropin subunits, and PRL in the pituitary glands of adult ovariectomized ewes. *Endocrinology.*; 126: 1361-1367, 1990.
- Turek, F.W.; Campbell, C.S. Photoperiodic regulation of neuroendocrine-gonadal activity. *Biol Reprod.*; 20: 32-50, 1979.
- Turnbull, K.E.; Braden, A.W.H.; Mattner, P.E. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. *Aust. J. Biol. Sci.*; 30: 229 – 241, 1977.
- Villa-Godoy, A.; Hughes, T.L.; Emery, R.S.; Enright, W.J.; Ealy, A.D.; Zinn, S.A.; Fogwell, R.L. Energy balance and body condition influence luteal function in Holstein heifers. *Dom Anim Endocrinol*; 7, 135-148, 1990.

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

Williams, S.Q.; Yaakub, H.; O'Callaghan, D.; Boland, M.P.; Scaramuzzi, R.J. Effect of energy intake from diet or infusion of glucose on ovulation rate in ewes. J Reprod Fertil; Abst Ser 19 : 150 abst., 1997.

Yaakub, H.; O'Callaghan, D.; O'Doherty, J.V.; Hyttel, P. Effect of dietary intake on follicle numbers and oocyte morphology in unsuperovulated and superovulated ewes. Theriogenology; 47: 182 abst., 1997.

Yaakub, H.; Wfiams, S.A.; O'Callaghan, D.; Boland, M.P. Effect of dietary intake and glucose infusion on ovulation rate and embryo quality in superovulated ewes. J Reprod Fertil.; Abst Ser 19 : 151 abst., 1997.

Zhenzhong, X.; McDonald, M.F.; McCutcheon, S.N. The effect of nutritionally - induced liveweight differences on follicular development, ovulation rate, oestrus activity and plasma follicle - stimulating hormone levels in the ewe. Anim. Repr. Sci.; 19: 67 – 78, 1989.

12. ANEXOS

CHAPTER 1

Estrous behavior in crossbred Saanen goat submitted to long-term undernutrition

Revista Brasileira de Reprodução Animal 27: 256-258, 2003

**Estrous behavior in crossbred Saanen goat submitted to long-term
undernutrition**

*(Comportamento estral em cabras mestiças de Saanen submetidas a subnutrição
crônica)*

Paula N.R.O.¹, Lopes Junior E.S.¹, Teixeira D.I.A.¹, Lima Verde J.B.¹, Câmara
A.C.L.¹,
Galeati G.², Freitas V.J.F.¹, Rondina D¹ *.

¹ Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil

² Facoltà di Veterinaria, Università di Bologna, Bologna, Italy

*Corresponding author e-mail : davide@uece.br

Abstract

The aim of this work was to compare the estrous activity of crossbred Saanen x SRD adult does raised in Northeastern of Brazil. For this, 15 ¾ crossbred Saanen x SRD goats were allocated in three nutritional groups: high (H), low (L) and low + high (LH). The body weight (BW), number of estrous cycles, as well as the length, were recorded. Although the means of BW in L and LH groups was statistically similar, the greater mass loss was recorded in L group (22.82% of initial BW). Means of BW, indicated a significant effect of nutritional treatment on *in vivo* performance groups ($P < 0.05$). Nutritional deficiency show to increase a percentage of abnormal cycles in L and LH groups. Length cycle was statistically similar ($P > 0.05$), while estrus length in HL group was lower than H and L group. In conclusion, the goats submitted to

undernutrition showed insufficient *in vivo* performance as well as abnormalities in the estrous behavior.

Keywords: goat, nutrition, reproduction

Resumo

O objetivo deste trabalho foi comparar a atividade estral de cabras adultas mestiças de Saanen x SRD criadas no Nordeste do Brasil. Para tanto, 15 mestiças $\frac{3}{4}$ Saanen x SRD foram colocadas em três grupos nutricionais : alto (H), baixo (L) e Baixo + Alto (LH). Foram anotados o peso corporal (BW), número de ciclos estrais e duração do ciclo. Embora as médias de BW nos grupos L e LH foi estatisticamente similar, a maior perda de massa foi observada no grupo L (22.82% do BW inicial). As médias de BW indicaram um efeito significativo do tratamento nutricional sobre o desempenho *in vivo* ($P < 0.05$). A deficiência nutricional aumentou a porcentagem de ciclos anormais nos grupos L e LH. A duração do ciclo foi estatisticamente similar ($P > 0.05$), enquanto a duração do estro no estro no grupo LH foi inferior ao grupo H e L. Em conclusão, cabras sub-nutridas tem seu desempenho diminuído bem como apresentam alterações no comportamento estral.

Palavras-chaves: cabra, nutrição, reprodução

Introduction

Environment, particularly nutrition is a key control of the reproductive function in ruminants. The influence of nutrition can have detrimental effects on litter size and it

is an important component of productivity in commercial exploitation. However the nutritional effects on reproductive efficiency in goat are poorly understood. Moreover in tropical area as Northeastern of Brazil the studies concerning interaction between nutrition and reproduction in goat are very limited. Some authors (SIMPLICIO, 1985; CHEMINEAU, 1986; CERBITO et al., 1995) reported that the rainfall and subsequent forage availability can cause detrimental effects on ovulatory and estrous activity in goat reared in extensive condition. Also estrous activity in goat can be altered by environment in intensive system (LOPES JÚNIOR et al., 2001). The aim of this work was the comparison of estrous activity of crossbred Saanen x SRD adult does, reared in tropical area of Northeastern of Brazil.

Material and Methods

The experiment was conducted at the Goat and Sheep Unit of State University of Ceará. For this study, fifteen $\frac{3}{4}$ crossbred Saanen x SRD goats were used. All the animals were adult and non pregnant. They were initially similar live weight (Table 1) and age. For 6 months the goats received elephant grass plus concentrate to provide 2 M (High group) and 0.7 M (Low and Low+High group) of requirement for maintenance of live weight (NRC, 1981). Finally the LH group was submitted to refeeding (1.5 M) for 6 weeks. A buck was introduced two times daily (09:00 AM; 16:00 PM) into the box to detect estrus. Immobilization of the female when mounted by the male was considered to be a sign of occurrence of estrus (MAULÉON & DAUZIER, 1965). The estrous cycles were classified according to CHEMINEAU et al., (1982). The estrus of goats were synchronized with a 45 mg FGA (Chrono-gest,

Intervet, France) vaginal sponge for 11 days. All goats also received intramuscular injections of 300 iu eCG (Novormon, Tecnopec, Argentina) and 50 µg cloprostenol (Ciosin, Coopers, Brazil) 48 h prior to removal of the sponge. All data were analyzed using SAS. The effect of group (High, Low, Low+High) was analyzed by GLM procedure. Comparison between means of nutritional group was performed by Duncan test. Difference among proportion or number of cycles was analyzed by chi square. Data was expressed as mean $\pm$ SEM and differences were taken as statistically significant from $P < 0.05$.

Results and Discussion

Means of body weight (BW), indicated a significant effect of nutritional treatment on *in vivo* performance of groups (Table 1, $P < 0.05$). Although the means of BW in L and LH groups was statistically similar, the greater mass loss was recorded in L group (22.82% of initial BW). In this group 50% of goat did not show estrus after sponge removal, by contrast in H group all animals were in estrus. Also the number of normal cycles recorded in L and LH groups during the experiment was similar to H group (8 vs 9, $P > 0.05$). This data confirmed the effect of undernutrition and was in agree to the results reported by RONDINA (1998) in goat undernourished. Nevertheless in LH group interaction between gonadotropin administration and flushing treatment applied in the last 6 weeks produced a estrus response in all animals after synchronization.

Concerning proportion of cycles (Fig. 1) registered during the experiment, nutritional deficiency show to increase a percentage of abnormal cycles in L and LH groups.

CHEMINEAU (1986) who worked with Guadeloupe goat pointed out that food low offer cause a alteration of cycle lenght.

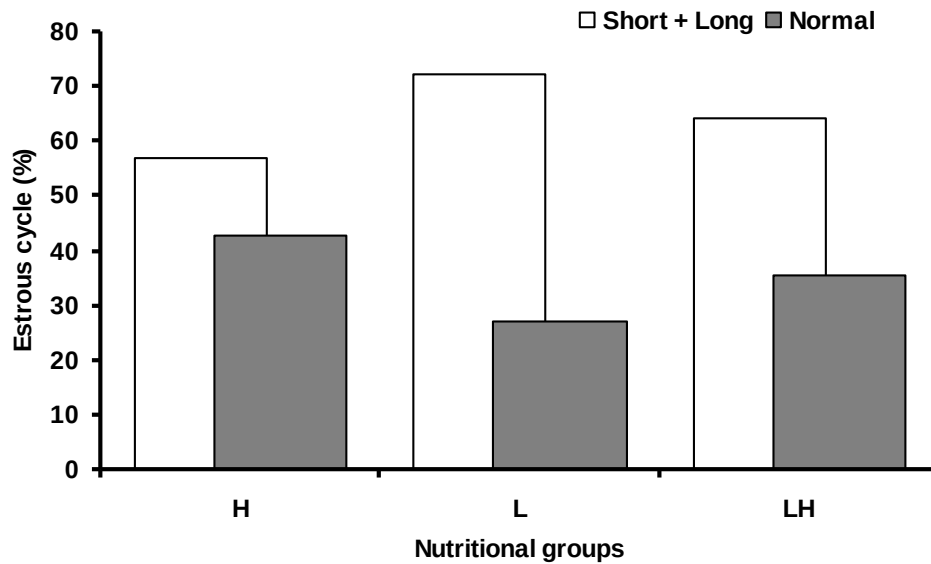


Figure 1: Proportion of estrous cycles recorded during the experiment in the nutritional groups (H: high, L: low, LH: low+high)

Characteristics of normal cycle were illustrated in Table 2. Length cycle was statistically similar ($P > 0.05$), while estrus length in L group was lower than H and HL group. Means of estrous length in H and LH groups were in according to FOOTE et al., (1986), CAMP et al., (1983) and SIMPLICIO et al., (1982).

Table 1: Mean ($\pm$ sem) body weight (Kg) of goats.

Group	Start	Final
High	26.30 $\pm$ 1.79	28.46 ^A $\pm$ 2.45
Low	22.22 $\pm$ 2.87	17.15 ^B $\pm$ 2.62
HL	22.72 $\pm$ 1.81	20.78 ^B $\pm$ 1.15

^{A,B,C} $P < 0.05$, comparison among groups.

Table 2: Mean ($\pm$ sem) estrus and cycle length of normal cycle

Group	Cycle (days)	Estrus (h)
High	20.44 $\pm$ 0.77	48.00 ^A $\pm$ 8.71
Low	21.33 $\pm$ 0.33	16.00 ^B $\pm$ 4.00
HL	21.60 $\pm$ 1.08	43.20 ^A $\pm$ 10.46

^{A,B,C} P < 0.05, comparison among groups.

In conclusion, the goats submitted to undernutrition showed insufficient *in vivo* performance as well as abnormalities in the estrous behavior.

References

- CAMP, J.C., WILDT, D.E., HOWARD, P.K. et al. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biol. Reprod.*, v.28, p.673 -681, 1983.
- CERBITO, W.A. ; NATURAL, N.G. ; AGLIBUT, F.B. et al. Evidence of ovulation in goats (*Capra hircus*) with short oestrus cycle and its occurrence in the tropics. *Theriogenology*, v. 43, p.803-812, 1995.
- CHEMINEAU, P. Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. I. Female oestrous behaviour and ovarian activity. *Reprod. Nutr. Develop.*, v.26, p.441-452, 1986.
- CHEMINEAU, P., GAUTHIER, D., POIRIER, J.C. et al. Plasma levels of LH, FSH, prolactin, oestradiol-17 β and progesterone during natural and induced oestrus in the dairy goat. *Theriogenology*, v.17, p.313-323, 1982.

FOOTE, W.C., RIERA, G.S., SIMPLICIO, A.A. Factors affecting reproduction. In: Goat and sheep in Northeast Brazil, 1. pp. 371 - 84. EMBRAPA-CNPA/SR-CRSP, Sobral, 1986.

MAULÉON,P. ; DAUZIER, L. Variations de la durée de l'anoestrus de lactation chez les brebis de race Ile-de-France. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. V.5, p.131-143, 1965

NRC (1981). Nutrient requirements of goat. National Academy of Sciences, Washington D.C., 91 pp.

RONDINA, D. Effect of nutritional state on quantitative and qualitative development of ovarian preantral follicles in does SRD (*Capra hircus* L.). Doctorate Thesis, University of Florence, Italy. pp. 68., 1998.

SIMPLICIO, A.A. Reproduction in three native genotypes of goats under two feeding management system in Northeast Brazil; and progesterone and luteinizing hormone profiles during the estrous cycle and seasonal anestrous in Spanish goats in the United States . Doctoral Thesis. Utah State University, Logan, Utah, 1985.

SIMPLICIO, A.A., RIERA, G.S., NUNES, J.F. Estrous cycle and period evaluation in an undefined breed type (SRD) for goats in Northeast Brazil. Proceedings III International Conference in Goat Production Production and Disease. Tucson Az. p. 310, 1982.

CHAPTER 2

Responsiveness to Progestagen-eCG-Cloprostenol Treatment in Goat Food Restricted for Long Period and Refed

Reproduction in Domestic Animals 40:1-3, 2005

Responsiveness to Progestagen-eCG-Cloprostenol Treatment in Goat Food Restricted for Long Period and Refed

NRO Paula¹, G Galeati², DIA Teixeira¹, ES Lopes Júnior¹, VJF Freitas¹ and D Rondina¹

¹Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil; ²Facoltà di Veterinaria, Università di Bologna, Ozzano dell'Emilia, Bologna, Italy

Contents

For 6 months, 10 adult Saanen crossbred goats were fed undernutrition diet (70% maintenance), and finally five goats were refed for 6 weeks with 150% maintenance. In all animals oestrus was synchronized using 45 mg FGA vaginal sponge for 11 days, 300 IU eCG and 50 µg cloprostenol 48 h prior to sponge removal. From oestrus onset, during a 24-h period, blood samples were collected for oestradiol and NEFA assay. Ovulation was verified by laparoscopy 3 days after sponge removal. Body mass loss was $18.62 \pm 3.03\%$ of initial weight and in refed goats body weight recovery was $90.63 \pm 3.56\%$. NEFA level was higher in restricted goats ($p < 0.05$). Fifty per cent of underfed goats (2/4) and all refed goats (4/4) exhibited oestrus and ovulation. Significant relationship ($p < 0.05$) was found between weight loss and the interval sponge removal-oestrus onset ($r = 0.91$) or ovulation rate ($r = 0.70$). Only in the refed group was the ovulation rate related to the oestradiol amount ($r = 0.99$) ($p < 0.05$). Collectively results showed that a short period of improved feeding re-established the responsiveness of oestrus synchronization in chronically fasted goats.

Introduction

Nutrition is a fundamental key for the control of reproductive efficiency in goats. In many arid and tropical regions such as north-eastern Brazil, food offer is scarce for long periods of the year and it is the main cause of breeding seasonality in goats (Walkden-Brown and Restall 1996). In these areas the use of hormonal treatment for both oestrus and ovulation synchronization is subordinate to supplementation availability or the body condition of females. In goats, the success of oestrus synchronization treatments was affected by severe alimentary restriction applied for short (Mani et al. 1992, 1996) or medium period (Kusina et al. 2001). So far, studies on the effects of prolonged periods of food restriction on synchronization treatment are lacking.

The aim of this study was to verify the responsiveness of oestrus synchronization treatment in goats submitted to chronic undernutrition and refeeding.

Materials and Methods

The experiment was conducted at State University of Ceará located at 3°43' S and 38°30' W. For this study, 10 cycling crossbred Saanen × local goats with similar (mean $\pm$ SEM) live weight (22.60 ± 1.58 kg) and age (1.8 ± 0.19 years) were used. The goats were grouped in two boxes ($n = 5$) and kept housed at ground level with free access to water and salt. For 6 months, all goats received elephant grass plus concentrate to provide 70% energy and protein requirement for maintenance of

live weight (0.7 kg; AFRC 1998). Finally, five goats chosen randomly were refed (1.5 kg) for 6 weeks. At the end of each nutritional treatment the oestrus was synchronized using 45 mg FGA (Chrono-gest; Intervet, France) vaginal sponge for 11 days and intramuscular injections of 300 IU eCG (Novormon; Syntex, Argentina) and 50 µg cloprostenol (Ciosin; Coopers, Brazil), 48 h prior to sponge removal.

From oestrus onset, during 24 h at 2-h interval, blood samples were collected in heparinized tubes by venipuncture. From plasma, 17β -oestradiol was measured as described by Tamanini et al. (1985) and non-esterified fatty acid (NEFA) by commercial kits (Boehringer Mannheim, Milan, Italy). The occurrence of ovulation was verified by laparoscopy (Oldham and Lindsay 1980) performed 72 h after sponge removal. The effect of nutrition (food restriction, refeeding) was analysed by the GLM procedure of SAS (SAS, Inc., USA). Comparison between mean values of nutritional treatment was performed by the *t*-test. Differences among proportions or numbers were analysed by chi-square. Correlation test was assessed using the Pearson test. Values were expressed as mean $\pm$ SEM.

Results

During the underfeeding period, one animal died and another one was ruled out because of reproductive infection. At sixth months of underfeeding, the weight loss of the animals ($n = 8$) was $18.62 \pm 3.03\%$ of initial body weight. After 6 weeks of food supply, the mean body weight recovery was $90.63 \pm 3.56\%$. The NEFA level measured at oestrus onset (Fig. 1) was higher in underfed goats ($p < 0.05$). In this group, 50% of the goats (2/4) did not exhibit oestrus or ovulation after oestrus synchronization treatment (Fig. 2). By contrast, all refed goats (4/4) showed oestrus and ovulation. The interval between the sponge removal and oestrus as well as the ovulation rate were correlated with the weight loss (Fig. 2) ($r = 0.91$, $p < 0.05$ and $r = 0.70$, $p < 0.05$, respectively). The ovulation rate was twice as high in refed goats in comparison with underfed goats (3.00 ± 0.71 vs 1.25 ± 0.75). The oestradiol pattern detected in the groups is given in Fig. 3. A correlation between ovulation rate and oestradiol total amount was verified only in refed goats ($r = 0.99$, $p < 0.05$).

Discussion

This study demonstrated that prolonged underfeeding has a detrimental effect on oestrus synchronization

	R	D	A	5	6	1	B	Dispatch: 15.12.04	Journal: RDA	CE: Kai
Journal Name	Manuscript No.							Author Received:	No. of pages: 3	PE: Sumathi

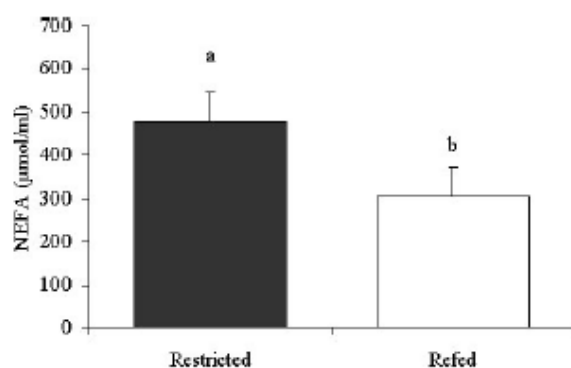


Fig. 1. Mean NEFA levels ($\pm$ SEM) at oestrus onset, after the oestrus synchronization treatment, for restricted (dark column) and refed (white column) groups. a, b: $p < 0.05$

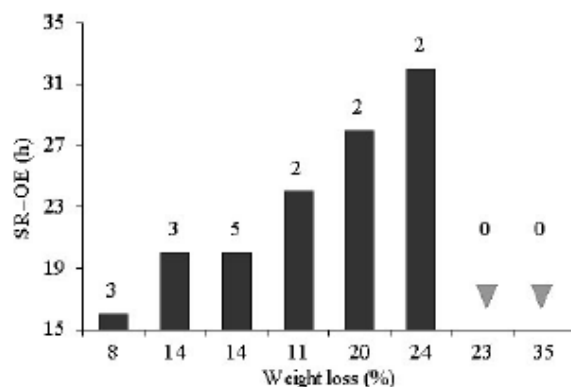


Fig. 2. Interval sponge removal to oestrus onset (SR-OE) (columns), number of ovulation (number at the top of columns marks) and weight mass lost (%) during the feed restriction. Arrows indicate ovarian quiescence (absence of oestrus and ovulation). Each column set out in the figure represents one goat

response in goats and that brief refeeding can restore the responsiveness of goats.

We found that chronic alimentary restriction affected negatively the occurrence of oestrus, the interval sponge removal to oestrus onset as well the ovulation rate in goats. Moderate long-term underfeeding reduced the responsiveness to oestrus synchronization similarly to that reported in goats fasted for short (Mani et al. 1994, 1996) or medium period (Kusina et al. 2001) before hormonal treatment.

Findings showed that the interval between sponge removal to oestrus and the ovulation rate tended to depend on the amount of body mass lost during the undernourishment. Positive relationship between body weight and ovarian quiescence (absence of oestrus and ovulation) induced by alimentary restriction was demonstrated by Tanaka et al. (2003) in Shiba goats. These authors, supported by previous observations (Tanaka et al. 2002), suggests that nutritionally induced ovarian quiescence begins with the deficiency of oestradiol secretion inhibiting the preovulatory LH surge.

Energetic balance is a particularly efficient metabolic signal for the final phase of ovarian follicle maturation

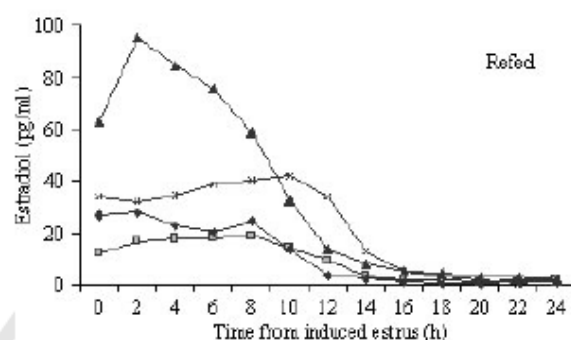
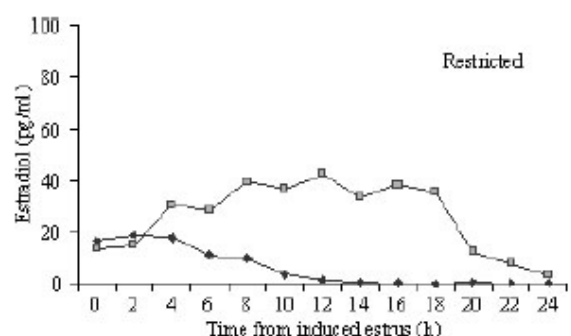


Fig. 3. Oestradiol levels according to the time of oestrus onset in restricted and refed goats

and thus for induction of oestrus and ovulation in ruminants (Boland et al. 2001). Mani et al. (1996) reported in goats, after oestrus synchronization, that nutritional restriction altered the preovulatory LH surge. In Mashona goats synchronized with repeated injections of cloprostenol, Kusina et al. (2001) reported a decrease in oestrus success and fertility in the restricted group ($0.5 \times$ dietary maintenance) compared with goats fed with diet at maintenance regimen.

In our study the refeeding protocol adopted was sufficient to recover the body mass lost during the extended undernourishment and increased the number of goats in oestrus. In these animals enhanced ovulation and oestradiol secretion was also observed, probably because of a combined action of energy supply and gonadotrophin administration.

Reciprocal advantage produced by association between feeding improvements and gonadotrophins treatment was reported by O'Callaghan et al. (2000) in synchronized ewes maintained at different level of dietary intake. In this study the ewes stimulated with pFSH showed a greater number of large follicles (> 3 mm) than unstimulated ewes. In superovulated goats, Selvaraju et al. (2003) showed a significant increase in ovulation rate when insulin was injected before the oestrus synchronization.

Realimentation or flushing is associated with increase in insulin and IGF-1 that ultimately restore ovulation rate and enhance the oestradiol secretion. In bovine, low plasma concentrations of insulin could reduce oestradiol production and compromise the ability of follicles to acquire LH receptors (Diskin et al. 2003). The ability of

oestradiol to induce a preovulatory surge of LH also is influenced by nutritional status in postpartum cows. Echterkamp et al. (1982) found that oestradiol induced LH surge in underfed cows occurred later and with lower amplitudes than those in well-fed cows.

From results obtained in this study a practical perspective was introduced to control the kidding season in tropical areas characterized by a long period of food shortage. Hormonal treatments are used to synchronize oestrus and thus facilitate the artificial insemination routine in genetic programmes in order to improve goat herd productivity. It is probably advisable to supply a diet before eCG-progestagen treatment to induce ovulation and repair the damage produced by chronic undernourishment in goats. However further research should verify the fertility of goats submitted to the same nutritional programme.

Acknowledgements

This research was supported by FUNCAP (n 004/01). Paula N.R.O. was the recipient of a scholarship from CAPES/Brazil. Freitas V.J.F. is senior investigator of CNPq/Brazil.

References

- AFRC, 1998: The Nutrition of Goats. CAB International, ???, 118 pp.
- Boland MP, Lonergan P, O'Callaghan D, 2001: Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology* **55**, 1323–1340.
- Diskin MG, Mackey DR, Roche JF, Sreenan JM, 2003: Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci* **78**, 345–370.
- Echterkamp SE, Ferrell C, Rone J, 1982: Influence of prepartum and postpartum nutrition on LH-secretion in suckled postpartum beef heifers. *Theriogenology* **18**, 283–295.
- Kusina NT, Chinuwo T, Hamudikuwanda H, Ndlovu LR, Muzanenhamo S, 2001: Effect of different dietary energy level intakes on efficiency of estrus synchronization and fertility in Mashona goat does. *Small Rum Res* **39**, 283–288.
- Mani AU, McKelvey WAC, Watson ED, 1992: The effects of low level of feeding on response to synchronization of estrus, ovulation rate and embryo loss in goats. *Theriogenology* **38**, 1013–1022.
- Mani AU, Watson ED, McKelvey WAC, 1994: The effects of subnutrition before of after embryo transfer on pregnancy rate and embryo survival in does. *Theriogenology* **41**, 1673–1678.
- Mani AU, McKelvey WAC, Watson ED, 1996: Effect of undernutrition on gonadotrophin profiles in non-pregnant, cycling goats. *Anim Reprod Sci* **43**, 25–33.
- O'Callaghan D, Yaakub H, Hyttel P, Spicer LJ, Boland MP, 2000: Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic hormone concentrations in ewes. *J Reprod Fert* **118**, 303–313.
- Oldham CM, Lindsay DR, 1980: Laparoscopy in the ewe – a photographic record of the ovarian activity of ewes experiencing normal or abnormal estrous cycles. *Anim Reprod Sci* **3**, 119–124.
- Selvaraju S, Agarwal SK, Karche SD, Majumdar AC, 2003: Ovarian response, embryo production and hormonal profile in superovulated goats treated with insulin. *Theriogenology* **59**, 1459–1468.
- Tamanini C, Bono G, Cairoli F, Chiesa F, 1985: Endocrine responses induced in anestrus goats by the administration of different hormones after a fluorogestone acetate treatment. *Anim Reprod Sci* **9**, 357–364.
- Tanaka T, Akaboshi N, Inoue Y, Kamomae H, Kaneda Y, 2002: Fasting-induced suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion is related to body energy status in ovariectomized goats. *Anim Reprod Sci* **72**, 185–196.
- Tanaka T, Yamaguchi T, Kamomae H, Kaneda Y, 2003: Nutritionally induced body weight loss and ovarian quiescence in Shiba goats. *J Reprod Dev* **49**, 113–119.
- Walkden-Brown SW, Restall BJ, 1996: Environmental and social factors affecting reproduction. In: VI International Conference of Goats, Beijing, pp. 762–775.

Submitted: xx.xx.200x

Author's address (for correspondence): Davide Rondina, Universidade Estadual do Ceará – Faculdade de Veterinária, Av. Paranjana, 1700 Campus do Itaperi, 60740-000 Fortaleza, Ceará, Brazil. E-mail: davide@uece.br