

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Uso de protocolos reprodutivos em ovelhas da raça Santa Inês sobre a sincronização e tempo médio para aparecimento do estro, a taxa de prenhez na IATF e no repasse

Marcos Vinicius Biehl

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba
2009**

Marcos Vinicius Biehl
Médico Veterinário

Uso de protocolos reprodutivos em ovelhas da raça Santa Inês sobre a sincronização e tempo médio para aparecimento do estro, a taxa de prenhez na IATF e no repasse

Orientador:
Prof. Dr. **ALEXANDRE VAZ PIRES**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

**Piracicaba
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Biehl, Marcos Vinicius

Uso de protocolos reprodutivos em ovelhas da raça Santa Inês sobre a sincronização e tempo médio para aparecimento do estro, e a taxa de prenhez na IATF e no repasse / Marcos Vinicius Biehl. - - Piracicaba, 2009.

85 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Ciclo estral animal 2. Estro animal 3. Ovelhas 4. Prenhez 5. Reprodução animal
6. Sincronização do cio I. Título

CDD 636.30824
B586u

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais Ari Norberto Biehl e Rosalia Vera Biehl, pelo amor e carinho, por serem, um exemplo de casal de pais e por sempre primarem pela educação dos seus dois filhos.

Dedico

Ao meu irmão Max Robert Biehl, pelo carinho, companheirismo, amizade e o prazer da convivência ao longo de todos esses anos.

À minha Avó Edi Pfeifer e minha tia Rosane, pelo afeto, amizade e atenção propiciados durante minha vida.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela presença em todos dias da minha vida.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade da realização do curso.

Aos meus pais Ari Norberto Biehl e Rosalia Vera Biehl, e ao meu irmão Max Robert Biehl, pelo amor, a minha avô Edi Pfeifer, pelo enorme carinho, e a todos os meus familiares pelo incentivo;

Ao Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires, pela oportunidade, amizade e orientação cuja atenção, dedicação e ensinamentos que não faltaram em nenhum momento.

À Prof.^a Dr.^a Ivanete Susin, pela colaboração, profissionalismo, preocupação e amizade dada ao longo desta jornada.

Ao Prof. Dr. Roberto Sartori Filho, pelos conselhos, atenção e valiosos ensinamentos.

Aos professores do Departamento de Zootecnia, em especial aos professores Wilson Roberto Soares Mattos e Irineu Umberto Packer pela atenção e cordialidade e valiosos ensinamentos.

À CAPES e ao CNPq, pelo suporte financeiro através da bolsa de estudos.

À todos os funcionários da Fazenda Pinhalzinho, pela colaboração na condução do experimento, em especial ao Sr. Gilberto Ferreira da Costa Lima, ao engenheiro agrônomo Emilio Almeida de Moraes, por terem cedido a propriedade para execução dos experimentos.

Aos amigos do SIPOC: Adilson, Cirilo, Diego, Evandro (Toca), Fabiane, Fumi (Japoneuza), Gustavo (Giga), Harry potter, K-neco, Luciana (Sfinge), Marinho (Pequetito), Marlon (Pônei), Michele (Miau), Rafael, Renato (Shimu), Susana e Omer (Rapariga), pela importante colaboração e aos bons momentos vividos durante esta jornada.

Aos Funcionários do SIPOC: Adilson, Alexandre, Joseval e Marcos, pela colaboração e convivência durante todo esse período.

À todo o pessoal do Departamento de Zootecnia, em especial a Giovana, pela receptividade e dedicação.

Aos moradores da República Viola Quebrada: Adenilson (Dêde), Cesinha, Delci (Negão), Rodrigo (Cowboy), Salim (Jungle boy) e os ex-moradores Daniel, Marconi e Laudi (Pai urso), companheiros e além de tudo grandes amigos.

Aos meus amigos da República Pão de Queijo: Renato (Fofó), Rafael (Purpurina), José Eduardo (Mineiro), José Thiago (Neto), Tobias (Voluntário) pelos momentos divertidos e de convivência;

Enfim, a todos, que direta ou indiretamente colaboraram para a realização desse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

“A iluminação, o aperfeiçoamento pessoal e as atividades diárias são parte da mesma coisa. É essencial entender esse fato da iluminação e manter essa atitude é o aperfeiçoamento pessoal”.

Tsai Chih Chung.

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
LISTA DE FIGURAS	17
LISTA DE TABELAS	19
LISTA DE ABREVIATURAS	21
1 INTRODUÇÃO	23
2.1. Ciclo estral	25
2.2.1 Hormônios utilizados para indução e sincronização do estro em ovelhas	27
2.2.1.1 Dispositivos intra-vaginais com progestágenos	27
2.2.1.2 Prostaglandinas e análogos sintéticos	29
2.3 Efeito macho	30
2.4 Inseminação artificial	32
Referências	34
3 EFEITO MACHO EM OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS SOBRE A DETECÇÃO E TEMPO MÉDIO PARA APRESENTAÇÃO DO ESTRO, E TAXA DE PREENHEZ NA IATF	41
Resumo	41
Abstract	41
3.1 Introdução	42
3.2 Material e Métodos	44
3.2.1 Localização e Período Experimental	44
3.2.2 Animais e Alimentação	44
3.2.3 Rufiões	44
3.2.4 Tratamentos	45
3.2.5 Sincronização do Estro	45
3.2.6 Inseminação Artificial	46

3.2.7 Diagnóstico de Prenhez	47
3.2.8 Análise Estatística	47
3.3 Resultados e Discussão	47
3.4 Conclusões	51
Referências	52
4 USO DE PROTOCOLOS REPRODUTIVOS EM OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS, SOBRE A TAXA DETECÇÃO, TEMPO MÉDIO PARA APRESENTAÇÃO DO ESTRO, TAXA DE PREENHEZ NA IATF E ESTRO SEGUINTE A IATF	55
Resumo	55
Abstract	56
4.1 Introdução	56
4.2 Material e Métodos	58
4.2.1 Localização e Período Experimental	58
4.2.2 Animais e Alimentação	58
4.2.3 Tratamentos	58
4.2.4 Sincronização do Estro	59
4.2.5 Inseminação Artificial	61
4.2.6 Repasse com Carneiros	62
4.2.7 Diagnóstico de Prenhez	62
4.2.8 Análise Estatística	62
4.3 Resultados e Discussão	62
4.4 Conclusões	67
Referências	67
5 MANIPULAÇÃO FARMACOLÓGICA DO CICLO ESTRAL SOBRE DIFERENTES HORÁRIOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL POR LAPAROSCOPIA	69
Resumo	69
Abstract	70
5.1 Introdução	70
5.2 Material e Métodos	72
5.2.1 Localização e Período Experimental	72
5.2.2 Animais e Alimentação	72

5.2.3 Tratamentos.....	73
5.2.4 Sincronização do Estro	73
5.2.5 Inseminação Artificial	76
5.2.6 Repasse com Carneiros	77
5.2.7 Diagnóstico de Prenhez.....	77
5.2.8 Análise Estatística.....	77
5.3 Resultados e Discussão	77
5.4 Conclusões	82
Referências.....	83

RESUMO

Uso de protocolos reprodutivos em ovelhas da raça Santa Inês sobre a sincronização e tempo médio para aparecimento do estro, e a taxa de prenhez na IATF e no repasse

Na década de 60, começaram a ser utilizadas técnicas e sincronização do estro, e durante os últimos trinta anos tem sido despertado o interesse do desenvolvimento de métodos para sincronizar o estro de ovelhas. Na maioria das vezes a IA está associada à um protocolo de sincronização do estro podendo assim ser realizada a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Três experimentos foram realizados com objetivo de avaliar a influência do efeito macho e tipos de rufião, reutilização do dispositivo e o método de inseminação utilizado, na sincronização do estro através do uso de dispositivos intra-vaginais (CIDR[®]- Control Internal Drog Release), associado com a aplicação intramuscular de eCG e PGF2 α , sobre a taxa de detecção e tempo médio para aparecimento do estro, taxa de prenhez na IATF e no primeiro estro após a sincronização. **Exp. I:** Foram utilizadas 270 ovelhas, separadas em três tratamentos: SM = (controle) sem rufiões; DL= recebeu rufiões com Desvio lateral peniano e o VS= recebeu rufiões vasectomizados. Os tratamentos foram submetidos ao mesmo protocolo, CIDR[®] por 7d, aplicação de 300UI de eCG e 6,71 mg de Dinoprost trometamina, na retirada do CIDR. As ovelhas foram submetidas a IATF pelo método transcervical em 55h após a retirada do CIDR. **EXP.II:** Foram utilizadas 275 ovelhas, divididas em 4 tratamentos: 7N= 7d com CIDR novo; 7U= 7d com CIDR já usado por 7d; 11N= 11d com CIDR novo; 11U= 11d com CIDR já usado por 7d. No dia da retirada do CIDR (D7 ou D11) foi realizada a aplicação de 300 UI de eCG e 6,71 mg de Dinoprost trometamina. As ovelhas foram submetidas a IATF pelo método transcervical, 49h após a retirada do CIDR. **Exp.III:** Foram utilizadas 247 ovelhas, divididas em 4 tratamentos: MN= as ovelhas foram sincronizadas e submetidas a monta natural com carneiros; IATF = as ovelhas foram submetidas a IATF por laparoscopia 48h após a retirada do CIDR; IATF+GnRH= as ovelhas foram submetidas a IATF por laparoscopia + 0,05 mg de Gonadorelina, quando 50% das ovelhas apresentaram sinais de estro; IA= as ovelhas foram inseminadas por laparoscopia no sistema AM/PM, 12h após o início dos sinais de estro. Todos os tratamentos foram submetidos ao mesmo protocolo, CIDR por 11 dias, aplicação de 300UI de eCG e 6,31 mg de Dinoprost trometamina, na retirada do CIDR. Nos experimentos I e II as ovelhas foram submetidas ao repasse com carneiros por 20 dias. O delineamento utilizado foi de blocos incompletos ao acaso, analisados pelo teste do Qui-quadrado e Tukey (estro). A taxa de detecção de estro no tratamento IATF (exp. III) foi de 59,7% sendo menor que os demais tratamentos ($P < 0,05$). A taxa de prenhez da sincronização do tratamento MN (61,1%), foi maior ($P < 0,05$) que os tratamentos IATF e IATF+GnRH. A inseminação artificial transcervical apresentou resultados médios que variaram de 21 a 35% e não apresentaram diferença ($P > 0,05$). O efeito macho e o tipo de macho não apresentaram diferença na IATF. O protocolo de 11 dias, mostrou-se eficiente em induzir o estro em 79% das ovelhas sincronizadas. A IA realizada 12h após o estro propiciou, índice de prenhez semelhante à monta natural, proveniente do estro sincronizado.

Palavras-chave: Ovelhas; Sincronização; Estro; CIDR

ABSTRACT

Use of reproductive protocols in Santa Inês ewes on estrus synchronization, mean time to onset of estrus and pregnancy rate by fixed-time artificial insemination or rebreeding

In the 60s, estrus synchronization techniques began to be used, and during the last 30 years has attracted the interest of developing new methods to synchronize estrus in ewes. Three experiments were performed to determine: I) influence of male effect and type of teaser; II) Effect of new and used CIDR® (Control Internal Drug Release) with different time of implant; III) Different time to perform IA after CIDR removal and comparison of laparoscopy method with natural breed, on heat detection and onset of estrus and pregnancy rate of ewes. Exp. I: 270 ewes were used, divided into three treatments: SM = (control) without teaser; DL = teaser with lateral penis deviation and VS = vasectomized teaser. All ewes were subjected to the same protocol: CIDR® for 7 days and received im. 300UI of eCG plus 6.71 mg tromethamine dinoprost at CIDR withdrawal. Ewes were artificially inseminated by transcervical method, 55h after CIDR removal. There was no difference on onset of estrus for LD (55.7%) and VS (50.5%). Similarly, the distribution of estrus was similar ($P > 0.05$) between treatments, where the averages were of 45:01 \pm 14:30 h for LD 12:10 h and 44:00 \pm 12:10h for VS. Pregnancy rate did not differ ($P > 0.05$) among treatments and was 34.0, 34.4 and 35.0% for LD, VS and SM, respectively. The male effect showed no influence on pregnancy rate when fixed-time artificial insemination was used. EXP.II: 275 ewes were used and divided into 4 treatments: 7N = 7d with new CIDR; 7U = 7d with already used CIDR for 7d; 11N = 11d with new CIDR; 11U = 11d with CIDR already used for 7d. On the withdrawal of the CIDR (D7 or D11) ewes received im. 300IU of eCG plus 6.71 mg tromethamine dinoprost at the time of CIDR removal. Ewes were submitted to FTAI, using the transcervical method, 49h after CIDR withdrawal. Total pregnancy rate in treatment 11N was higher (86.6%, $P = 0.03$) as compared with treatment 7U (71.4%). The protocols for estrus synchronization of 7 and 11d were effective in inducing the expression of estrus. The reuse of CIDR did not influence the rate of onset and average time to onset of estrus and pregnancy rate in the FTAI. Exp.III: 247 ewes were used and divided in four treatments: MN = ewes were synchronized and exposed to males during 20d; IATF = ewes were synchronized and inseminated by laparoscopy 48h after CIDR removal; AITF+GnRH= ewes were synchronized and inseminated by laparoscopy using 0.05 mg gonadorelin, when 50% of the ewes showed signs of estrus; AI = ewes received im. 300IU of eCG plus 6.71 mg tromethamine dinoprost at the time of CIDR removal and were inseminated by laparoscopy, 12h after the onset of signs of estrus. All treatments were subjected to the same protocol: CIDR for 11 days, intramuscular injection of 300UI of eCG plus 6.31 mg tromethamine dinoprost at CIDR removal. In all experiments ewes were exposed to rams (natural breeding), 10 days after FTAI. The experimental design was an incomplete randomized block, analyzed by chi-square and Tukey (estrus). The rate of detection of estrus in the treatment AITF (exp.III) was 59.7%, being lower than the other treatments ($P < 0.05$). The pregnancy rate of the synchronization treatment MN (61.1%) was higher ($P < 0.05$) that the treatments AITF and AITF+GnRH.

Transcervical artificial insemination had average results that ranged from 21 to 35% and showed no difference ($P > 0.05$). The purpose and type of ram showed no difference in the AITF. The protocol of 11d, was effective in inducing estrus in the 79% of ewes synchronized. The IA conducted 12h after estrus provided, similar to pregnancy rate of natural builders, after the synchronization of estrus.

Keywords: Ewes; Synchronization; Estrus; CIDR

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Protocolo recomendado pelo fabricante do dispositivo.....	42
Figura 2 -	Dados acumulados da detecção de estro estratificado ao longo do tempo a partir da retirada do CIDR, de acordo com os tratamentos....	46
Figura 3 -	Protocolo de 7 e 11 dias de permanência do dispositivo.....	58
Figura 4 -	Dados acumulados da detecção de estro ao longo do tempo a partir da retirada do CIDR.....	62
Figura 5 -	Protocolo 11d de permanência do dispositivo.....	74
Figura 6 -	Porcentagem acumulada da detecção de estro, estratificado a cada 6 horas, a partir da retirada do CIDR.....	80
Figura 7 -	Taxa de prenhez dos tratamentos no estro da sincronização, no primeiro estro após a sincronização e total.....	82

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Porcentagem de detecção e tempo médio para o aparecimento do estro, após a retirada do dispositivo vaginal e taxa de prenhez na IATF das ovelhas submetidas aos tratamentos experimentais.....48
- Tabela 2 - Porcentagem de aparecimento de estro e tempo médio para apresentação após a retirada do dispositivo vaginal.....63
- Tabela 3 - Taxas de prenhez na IATF, no primeiro ciclo estral após a IATF e prenhez total.....65
- Tabela 4 - Porcentagem de aparecimento de estro e tempo médio para apresentação após a retirada do dispositivo vaginal.....78

LISTA DE ABREVIATURAS

- 11N – Protocolo de 11 dias com dispositivo novo
11U – Protocolo de 11 dias com dispositivo usado
7N – Protocolo de 7 dias com dispositivo novo
7U – Protocolo de 7 dias com dispositivo usado
CIDR – Controlled internal drug release
CL – Corpo lúteo
SRNS – Small ruminant nutrition system
DL – Rufião com desvio lateral do pênis
eCG – Gonadotrofina coriônica equina
FSH – Hormônio folículo estimulante
GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofinas
IA – Inseminação artificial
IATF – Inseminação artificial em tempo fixo
LH – Hormônio luteinizante
Mhz – Megahertz
MN – Monta natural
PG – Prostaglandinas
PGF2 α – Prostaglandinas série α
SM – Sem macho
VS – Rufião vasectomizado

1 INTRODUÇÃO

O maior desafio da ovinocultura brasileira é a produção de animais precoces com carne de alta qualidade. O desejo expressado pelo consumidor nas gôndolas dos supermercados é manifestado pela preferência por carne macia, de coloração rosada e com pouca gordura, originada do abate de animais jovens. Estas exigências por parte dos consumidores influenciaram diretamente o crescimento da ovinocultura no Estado de São Paulo.

Dentre as espécies de ruminantes criados pelo homem para produção de carne, os ovinos apresentam o menor intervalo entre o nascimento e o abate. Entretanto, o sucesso dessa atividade é determinado, entre outros fatores, pela taxa de produção de cordeiros para abate, que varia em função do número de matrizes e seu subsequente desempenho reprodutivo. Segundo Boucinhas, Siqueira e Sirlei (2006) a reprodução na ovelha também pode ser afetada por outros fatores, dentre eles a estacionalidade reprodutiva e o estado nutricional. As raças sem anestro sazonal facilitam a diminuição do intervalo de partos, podendo-se ter como objetivo a obtenção de três partos a cada dois anos.

O desempenho reprodutivo do rebanho ovino está relacionado com outros componentes que influenciam o sucesso da exploração, exercendo assim, um papel estratégico no incremento da produtividade. A utilização do melhoramento genético associado com biotécnicas reprodutivas tem demonstrado avanços significativos no aumento da produtividade.

Existem diversas biotecnologias de reprodução animal que podem impulsionar e agilizar o melhoramento genético dos rebanhos, tais como a inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE) e a fecundação in vitro (FIV), entre outras.

Em ovinos, é crescente a utilização de novas biotécnicas reprodutivas. Entretanto, ainda apresentam limitações relacionadas à grande variedade nos resultados quanto à fertilidade, devido a variáveis ligadas à idade, raça, estágio reprodutivo e a anatomia do aparelho reprodutivo, como também ao tipo de progestágenos ou a dose de estimulantes foliculares (LOPEZ-SEBASTIAN, 1991).

Os protocolos de sincronização do estro possuem uma boa eficiência, porém a difusão da técnica de IA ainda enfrenta dificuldades na difusão em rebanhos comerciais. A principal limitação encontrada tem sido a dificuldade em transpor o canal cervical, para deposição intra-uterina do sêmen no corpo do útero (CROY; PRUDENESTRO; MINHAS, 1999). Esse fator pode explicar a variabilidade dos resultados obtidos em programas de sincronização.

O conhecimento das possíveis respostas reprodutivas a fatores externos como o fotoperíodo, a nutrição e fatores sócio-sexuais, constitui um passo em direção à utilização da “bioestimulação” em detrimento da utilização de hormônios exógenos para proceder ao controle e melhoramento da produtividade ovina (MARTIN; RODGER; BLACHE, 2004).

No presente trabalho procurou-se avaliar o efeito macho na bioestimulação reprodutiva por dois tipos de rufiões (desvio lateral peniano e vasectomizado); Além disso, objetivou-se avaliar a eficiência de protocolos de sincronização da ovulação para IA através da utilização de dispositivos intra-vaginais de progesterona (CIDR[®]) novos e usados, associados a eCG e PGF2 α , na taxa de concepção em ovelhas da raça Santa Inês.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Ciclo estral

O ciclo estral é um conjunto de eventos que se repetem sucessivamente, em ovelhas tem uma duração de 17 ± 2 d e se divide em uma fase luteal que se estende desde o dia 2 (estro = dia 0) até o dia 13 e uma fase folicular que compreende o dia 14 até o dia 17 (RUBIANES, 2000). Da mesma maneira, Pineda (1989) descreveu as fases do ciclo estral, em folicular e lútea. A fase folicular dura cerca de 2 a 3 d, e é o período em que os folículos crescem, sendo caracterizado pelo comportamento de estro, o pico de LH pré-ovulatório e o surgimento da ovulação. A fase lútea é caracterizada pela presença de um ou mais corpos lúteos. O comprimento da fase lútea determina a duração do ciclo.

A definição mais utilizada da duração do ciclo estral é descrita por Hafez (1952), que classificou essa duração em ciclos simples (até 26 d), e múltiplos (27 a 57 d). Os ciclos estrais simples foram divididos em ciclos curtos (<14 d), normais (14 a 19 d) e longos (20 a 26 d), entretanto os múltiplos em duplos (27 a 37 d) e triplos (38 a 57 d). Posteriormente, outros autores (DYRMUNDSSON; LEES, 1972; QUIRKE, 1978; BATHAEI, 1996) assumiram que ovulações sem comportamento de estro (silenciosas) ocorreram entre dois períodos de estros clínicos em ciclos estrais maiores que 26 d. Presenças de ovulações foram confirmadas por Hare e Bryant (1982) mediante determinação das concentrações plasmáticas de progesterona. Segundo Traldi (1990), os ciclos estrais têm uma duração média de 17 d, variando de 14 a 19, independente da origem do animal; porém, a duração do cio de 24 a 36 h nas raças de climas temperados mostra-se mais longa naquelas tropicais, cerca de 45h, variando de 12 a 72h.

O ciclo estral de ovelhas pode também ser dividido obedecendo à classificação em proestro, estro, metaestro e diestro (HEAPE, 1990). Nesta, o proestro tem duração de 2 a 3 d e é caracterizado pelo crescimento folicular e secreção de estrógeno, sob estímulos de gonadotrofinas hipofisárias. As concentrações de estrógeno aumentam progressivamente no sangue e estão associadas a alterações nos órgãos reprodutivos,

como aumento do suprimento sanguíneo no trato genital (JAINUDEEN; HAFEZ, 1993). Segundo Pineda (1989), as ovelhas não apresentam sinais evidentes durante o proestro, entretanto com a aproximação do estro, a vulva torna-se edemaciada, o vestibulo torna-se hiperêmico e as glândulas cervicais e vaginais produzem secreção serosa transparente. O estro varia de 20 a 36h, com média de 26 h (PINEDA, 1989; LINDSAY, 1991; JAINUDEEN; HAFEZ, 1993). A ovulação é espontânea e ocorre no final do estro, cerca de 24 a 27 h após o seu início (ROBINSON, 1959). O metaestro é definido como o período de formação do corpo lúteo (CL), e para fins práticos, é incluído no diestro (PINEDA, 1989). O diestro (fase lútea), fase dominante no ciclo estral da ovelha, dura 12 a 14 d e é caracterizado pela presença de um ou mais CL, resultante do rompimento do folículo ovulatório. À medida que a fase lútea progride o CL produz um volume crescente de progesterona, até um platô que se inicia por volta do dia 6 e se mantém até a luteólise (PANT; HOPKINSON; FITZPATRICK, 1977). Embriões viáveis devem estar presentes no útero até o dia 13 do diestro para fornecer sinal luteotrópico (PINEDA, 1989). Se não há embriões viáveis presentes, o CL regride rapidamente sob influência da PGF2 α (secretada pelo útero), reduzindo a quantidade de progesterona circulante, permitindo a ovelha iniciar outro ciclo estral (ZARCO et al.; 1988). Este processo repete-se durante subsequentes ciclos até o final da estação reprodutiva, se a ovelha não ficar prenhe.

Bartlewski et al. (1999) ao avaliarem a dinâmica folicular em ovelhas Western White, durante o início da estação reprodutiva, observaram ondas de crescimento folicular caracterizada por um número de $1,6 \pm 0,1$ folículos maiores que 5 mm por onda, com duração da fase estática de $1,7 \pm 0,2$ d, fase de atresia de $3,4 \pm 0,2$ d e um intervalo de ondas de $4,9 \pm 0,3$ dias. A onda ovulatória teve uma taxa de ovulação de $1,3 \pm 0,2$, e o diâmetro máximo atingido pelo folículo foi de $6,2 \pm 0,2$ mm.

De acordo com Minton et al. (1991), valores plasmáticos de progesterona inferiores a 1 ng/mL podem caracterizar as fases de estro ou de anestro, enquanto valores superiores a 3 ng/mL caracterizam a fase de diestro (luteal) ou gestação. A fase de anestro diferencia-se da fase de estro quando as concentrações de progesterona permanecem baixas por um período superior a 10 d. Coelho et al. (2000) ao trabalhar com os mesmos animais do estudo em questão, verificaram que as médias de

concentrações plasmáticas de progesterona durante as fases do ciclo estral das fêmeas Santa Inês, Romney Marsh e Sulffolk foram de 0,45, 0,30 e 0,39 ng/mL no estro, 1,64, 1,91 e 1,88 ng/mL no metaestro, 4,30, 4,86 e 4,33 ng/mL no diestro e 2,16, 2,33, e 1,47 ng/mL no proestro.

A concentração de 17- β -estradiol no sangue aumenta de 10 pg/ml para 20 pg/ml, o que estimula a liberação do LH pela hipófise, parcialmente estimulado pelo GnRH. A concentração de LH no sangue atinge o pico de 80 ng/ml, cerca de 10 h após o início do cio, caindo então rapidamente (2 a 3 ng/mL), juntamente ao estradiol (TRALDI, 1990). A ovulação ocorre cerca de 14 h após esse pico de LH, ou seja, aproximadamente 24h após o início, já em seu terço final.

Sasa (2006), ao trabalhar com fêmeas ovinas da raça Romney Marsh e Santa Inês observou que as fêmeas da raça Santa Inês não apresentaram variação sazonal nas concentrações plasmáticas de progesterona, mostrando um padrão de secreção constante ao longo do ano, demonstrando assim que estas fêmeas possuem atividade cíclica durante todo o ano.

2.2.1 Hormônios utilizados para indução e sincronização do estro em ovelhas

2.2.1.1 Dispositivos intra-vaginais com progestágenos

O desenvolvimento da sincronização de estros com análogos sintéticos da progesterona iniciou-se nos anos 60 (ROBINSON, 1967). A utilização de dispositivos intra-vaginais ou esponjas contendo norgestomet têm sido o tratamento de escolha, para a sincronização do estro em pequenos ruminantes, quer durante a estação reprodutiva ou durante a fase de anestro (BOSCOS et al., 2002). Este método leva à diminuição sincrônica de progesterona, porém o momento da ovulação varia, dependendo do estágio de desenvolvimento do folículo, quando o progestágeno é removido (ROCHE et al., 1999). No período de administração da progesterona e seus análogos por 12 a 14 dias, ocorre a regressão do corpo lúteo, contudo o estro e a ovulação apenas manifestam-se quando a progesterona exógena for removida (CASTONGUAY et al., 1990). Estudos realizados em ovelhas demonstram que a

principal atuação da progesterona ocorre no hipotálamo, decrescendo a frequência dos pulsos de LH, e aumentando sua amplitude. (GOODMAN; KARSCH, 1980; GOODMAN et al., 1982)

Tratamentos longos com progestágenos (12d ou mais) são utilizados em pequenos ruminantes na indução e sincronização do estro, apresentando alta porcentagem de animais em estro após este tratamento, mas a fertilidade é menor do que no estro natural (ROBINSON et al., 1970). Knights et al. (2001) realizaram um estudo com ovelhas anovulatórias, utilizando uma sincronização com progesterona de curta duração (5d), para estimular um estro fértil. Os resultados encontrados neste trabalho podem ter eficiência comparada com protocolos de longa duração (12 dias).

Segundo Mihm et al. (1999), a sincronização do estro com progesterona ou progestágenos resulta em taxas de concepção de 70 a 80%. Tais valores são possíveis porque em torno de 25% das ovelhas não concebem, provavelmente possuem oócitos de baixa qualidade oriundos dos folículos envelhecidos. Isto acontece quando a luteólise natural ocorre no início da sincronização, deixando o dispositivo como única fonte de progesterona, inferindo o feedback negativo para a secreção de gonadotrofinas. Também pode ocorrer a queda da eficiência do dispositivo com o tempo, diminuindo as concentrações de progesterona, e conseqüentemente aumento da frequência dos pulsos de LH, e ao crescimento prolongado de folículos ovulatórios, tal como descrito em bovinos.

As características do folículo ovulatório, dependem da capacidade da progesterona exógena controlar a liberação de gonadotrofinas. Em vacas e ovelhas a ausência da progesterona luteal e a inserção de pessários levam a um aumento dos pulsos de LH, prolongando o tempo de vida e aumentando o diâmetro do maior folículo. Quando estes ovulam, há redução da fertilidade (STOCK; FORTUNE, 1993; MIHM et al., 1994; AUSTIN et al., 1999). Segundo Boland; Crosby; Callaghan (1990) cerca de 90% das ovelhas que receberam progestágeno, manifestaram estro em até 4d após a retirada dos pessários, e apresentaram novo estro após 16-20d, caso não tenham sido fecundadas no primeiro serviço. Estes autores ainda consideraram o uso da progesterona como o único método de sincronização do estro durante a estação reprodutiva com ampla aplicação prática.

2.2.1.2 Prostaglandinas e análogos sintéticos

As prostaglandinas (PG), primeiramente isoladas em fluidos das glândulas sexuais acessórias, receberam esta nomenclatura por causa de uma associação com a glândula prostática, sendo que quase todos os tecidos orgânicos podem secretá-las. Todas as PG são ácidos graxos hidroxilados insaturados com vinte átomos de carbono e um anel ciclopentano. (HAFEZ; JAINUDEEN; ROSNINA, 2004). São divididas de acordo com sua estrutura, função e produzem efeitos biológicos diferentes. Possuem quatro grandes grupos: A, B, E e F (FERNANDES; FIGUEIREDO, 2007).

As PG endógenas possuem atividades bastante amplas, provocam contrações ou relaxamento das células musculares lisas em diversos órgãos, sendo este o seu efeito fisiológico predominante. Na Medicina Veterinária a propriedade terapêutica mais antiga, é a capacidade de algumas PG da série F provocarem a luteólise (TSAI e WILTBANK, 1997). Na década de 70 vários compostos análogos à PGF₂α natural foram sintetizados, tais como o Cloprostenol ou Racemato – DL – Cloprostenol (COOPER; FURR, 1974).

A eficiência da PGF₂α depende da funcionalidade do CL, sendo maior nos dias 5 a 10 do ciclo estral. O intervalo entre a administração da PGF₂α, e o início do estro tem sido bastante variado, devido ao estágio do ciclo estral e do desenvolvimento folicular quando a luteólise é induzida. A fase do ciclo estral, onde é administrada a PGF₂α, afeta diretamente o pico de LH e posteriormente ovulação (ACRITOPOULOU; HARESIGN, 1980; RUBIANES, 2000b). Contrário a gradual queda das concentrações de P4, observada durante a luteólise espontânea do CL, a administração de PGF₂α causa uma queda abrupta na concentração de progesterona, ocorrendo a ovulação 70h após a administração de PGF₂α (GORDON, 1997 apud DELIGIANNIS et al., 2005). Em ovelhas quando se administra prostaglandinas (PGF₂α), a porcentagem de animais que apresentam estro dentro de 3 a 4 dias é de 60 – 70% (RUBIANES, 2000).

2.3 Efeito macho

O efeito macho é uma ferramenta reprodutiva natural, que em muitas vezes é utilizada empiricamente, com o intuito de induzir e sincronizar o estro em ovelhas em anestro sazonal, pode ainda ser utilizada para antecipar a puberdade e o retorno à ciclicidade após o parto (LUCIDI; BARBONI; MATTIOLI, 2001; HORTA; GONÇALVES, 2006; LÓPEZ-SEBASTIAN et al., 2007; SANTOS, 2007;). Ultimamente diversos trabalhos foram realizados, com o objetivo de estudar a utilização conjunta da bioestimulação e protocolos reprodutivos. Na maioria dos estudos a introdução dos carneiros foi realizada perto do final dos tratamentos hormonais, ou imediatamente a seguir à remoção dos dispositivos vaginais (SANTOS, 2007).

Segundo Moraes et al. (2002), este procedimento é de muita utilidade quando se deseja antecipar a manifestação de estro de um rebanho em torno de um mês antes do início efetivo da estação reprodutiva, em momentos de anestro mais profundo. Porém, o percentual de ovelhas que respondem com manifestação de estro é baixo.

De acordo com Ungerfeld (2003) apud Santos (2007), já foram realizados estudos sobre efeito macho em mais de 45 raças ovinas. Cerca de 40% foram realizados por pesquisadores Australianos e Neo-Zelandeses, e mais da metade das informações, foram obtidas em experimentos onde utilizou-se ovelhas das raças Merino e Romney Marsh. Atualmente muito pouco se sabe sobre a resposta do efeito macho em raças predominantes na América latina, em especial a raça Santa Inês.

Como a introdução de carneiros em um rebanho de ovelhas em anestro provoca um aumento da frequência da liberação pulsátil de LH, que passa a ocorrer em 2 a 4 minutos. Se os machos forem mantidos no rebanho, origina uma descarga pré-ovulatória de LH e concomitantemente aumento no número e diâmetro dos folículos (EVANS et al., 2004).

Desde o surgimento dos primeiros estudos com efeito macho (SCHINCKEL, 1954 apud PEARCE; OLDHAM, 1988), determinou-se que, para as ovelhas ovularem, em resposta à introdução dos carneiros, era necessário que estas se encontrassem em um período anovulatório, e que tivessem passado por um período de pré-condicionamento, em que se encontrassem afastadas dos carneiros. A duração precisa deste período de

isolamento não foi determinada, sendo influenciada por diversos fatores como raças, época do ano, latitude etc. Watson e Radford (1960) foram os primeiros a testarem os efeitos de vários graus de associação de ovelhas com carneiros, e determinaram que estímulos olfativos e auditivos, provenientes do carneiro foram suficientes para estimular as ovelhas, não sendo necessário o contacto entre os animais (estímulos visuais e tácteis).

Os carneiros estimulam o estro, em ovelhas em anestro, através dos receptores olfativos existentes nas ovelhas, em associação com estímulos comportamentais gerados durante a atividade de cortejamento. (ROSA; BRYANT, 2002). A ovelha utiliza os sentidos do olfato, visão, audição e tato, para perceber estes estímulos. Existem evidências que levam a crer, que apesar dos diferentes sinais sensitivos poderem atuar sozinhos nos resultados positivos da bioestimulação, o efeito máximo pode ser em muitos casos constatado, quando os efeitos atuam de forma sinérgica. (ROSA; BRYANT, 2002)

A partir dos conceitos pesquisados, tornou-se claro que os estímulos olfativos envolvidos na bioestimulação têm origem nos ferormônios produzidos espontaneamente pelos carneiros (SIGNORET, 1991). Ferormônios são substâncias químicas produzidas pelo organismo do animal, que são segregadas para o exterior através da urina, fezes ou glândulas da pele. Estas substâncias químicas causam uma reação específica em animais da mesma espécie. A resposta aos estímulos dos ferormônios envolve o aparecimento de um comportamento específico, ou uma alteração fisiológica no aparelho reprodutor ou endócrino do animal. A bioestimulação pode exercer efeitos reprodutivos profundos via sistema hipotalâmico, gerando pulsos de GnRH (REKWOT et al., 2001)

Há evidências que a síntese de ferormônios seja dependente dos andrógenos, pois ovelhas e machos castrados não conseguiram induzir a ovulação em ovelhas em anestro. Porém após androgenização com elevadas doses de testosterona, ambos os sexos conseguiram induzir a ovulação em fêmeas em anestro (SIGNORET et al., 1982 apud ROSA et al., 2000).

O isolamento refere-se não exclusivamente ao estímulo visual, mas também ao olfativo e auditivo durante este período. A distância mínima recomendada é de 1 km

dos carneiros para com as ovelhas (PEARCE; OLDHAM, 1988). Quanto ao período de isolamento Oldham (1980, citado por SANTOS, 2007), preconizou o período de 34 dias. Já Martin et al. (1986) demonstraram que o período de duas semanas foram o suficiente para que houvesse a bioestimulação. Assim os ferormônios presentes na lã, gordura e urina de carneiros adultos, são capazes de estimular as ovelhas para ovular logo no início da estação reprodutiva. (REKWOT et al., 2001)

Em programas de IA, para realização do efeito macho, é comum a utilização de rufiões, que são machos inteiros incapazes de realizar a cópula fértil, através de métodos cirúrgicos. Existem inúmeras técnicas cirúrgicas para confecção dos rufiões. Para o controle de matrizes no estro Boundy; Cox (1996) utilizaram carneiros vasectomizados, permitindo que os animais praticassem a cópula, mas não a fecundação. Outros métodos citados para o preparo de rufiões bovinos são fixação do pênis à parede abdominal (BELLING, 1961), novo óstio prepucial (CARNEIRO, 1975), desvio de pênis para a parede lateral do abdômen (ROYES; BIVIN, 1973) fixação da curvatura caudal da flexura sigmóide do pênis (EURIDES; PIPPI, 1983) e remoção do ligamento apical do pênis (EURIDES, et al., 1992).

Menezes et al. (2008), avaliaram o efeito do tipo de rufião (efeito macho), para bioestimulação em novilhas submetidas à rufiões vasectomizados e vacas androgenizadas, sobre o desempenho ponderal e reprodutivo. Nesse estudo eles não encontraram diferenças nos dois métodos. A falta de estudos quanto ao efeito do tipo de macho na bioestimulação de ovelhas, justifica a execução do presente estudo.

2.4 Inseminação artificial

A IA é uma técnica reprodutiva em que se obtém o sêmen do macho para ser posteriormente depositado no trato reprodutivo da fêmea, com o auxílio de instrumentos sem que haja contato direto entre macho e fêmea (EVANS; MAXWELL, 1987). A primeira IA em ovelhas foi realizada por Ivanov, na Rússia, em 1903. Desde essa data, a técnica tem sido utilizada, mas apenas a partir da década de 70 tem-se verificado um grande impulso na sua aplicação, provavelmente associado a melhorias nos métodos

de conservação do sêmen e ao desenvolvimento de tratamentos de sincronização (BODIN et al., 1997).

Dentre as diversas biotecnologias de reprodução animal que podem impulsionar e agilizar o melhoramento genético dos rebanhos, é sabido que a IA é a técnica de menor custo e de maior utilização no mercado. Dentre as vantagens da IA, pode-se salientar o seu uso como forma de expansão de populações de animais com capacidade melhoradora, permitindo a introdução de raças exóticas com elevado potencial produtivo (GUSMÃO; MOURA, 2005).

A sincronização do estro em período de atividade reprodutiva nas raças estacionais e ou não estacionais tem sido utilizada para viabilizar a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (TRALDI, 2006).

O maior empecilho para realizar a IA, é a dificuldade de transpassar o canal cervical da ovelha, especificamente, por ela ser de forma extremamente sinuosa e de difícil ultrapassagem, limitando assim a utilização da técnica em larga escala. Atualmente existem quatro técnicas de IA em ovinos, entre as quais podemos citar: o método vaginal, o transcervical, o transcervical tracionado e o laparoscópico.

O método transcervical, onde se deposita o sêmen a partir do primeiro anel cervical requer a utilização de sêmen com alta concentração de espermatozoides, uma vez que o caminho a ser percorrido pelos mesmos, até o local da fecundação do oócito é longo. Neste método o inseminador localiza a cérvix com o auxílio do espécúlo, através do uso de um aplicador, que quando possível é introduzido pelo canal cervical até atingir o corpo do útero, onde o sêmen é depositado. Quanto mais profunda for a penetração da pipeta no colo do útero, maior será o percentual de resultados positivos. Em ovinos, a tortuosidade dos anéis cervicais interfere na inseminação por esse método.

Em programas de IATF com sêmen fresco, a inseminação poderá ser feita entre 36 e 48h após a retirada do pessário ou 42 a 48h quando do uso de sêmen resfriado. Devido ao diferencial entre resposta ao tratamento e momento de ovulação de ovelhas e borregas, a IA laparoscópica com sêmen congelado pode ser feita aproximadamente 55h após a retirada do pressário em ovelhas e de 34 a 68h em borregas. Para a espécie ovina, o melhor momento da inseminação em cio natural se dá em um intervalo

de 12 a 18h após a aceitação da monta pelo rufião (TRALDI, 2006). Desta forma, a técnica cervical possui baixa eficácia ao melhoramento genético, pois não maximiza a utilização do ejaculado de um reprodutor e requer que o reprodutor doador de sêmen esteja próximo ao local das fêmeas, em função da necessidade de utilização de sêmen fresco e ou refrigerado.

Uma das principais vantagens da inseminação por laparoscopia, é que, o sêmen é depositado diretamente nos cornos uterino. Também durante a inseminação pode-se realizar um exame ginecológico do trato reprodutivo, retirando do programa algum animal com problemas reprodutivos (ANEL et al., 2005).

Sousa (2002) realizou IA cervical com tempo fixo em 64 ovelhas sincronizadas, com aproximadamente 200×10^6 espermatozóides, e obteve uma taxa de prenhez de 41,9% utilizando sêmen fresco e 21,5% utilizando sêmen refrigerado em Equitainer[®] por 24h. Neste trabalho, quando as inseminações foram realizadas em ovelhas com estro espontâneo, a taxa de concepção com sêmen fresco foi de 78,6% e com sêmen refrigerado de 71,4%, não sendo observada diferença estatística. Rabassa et al. (2007) compararam a inseminação por laparoscopia com transcervical em 70 ovelhas da raça corriedale, e obtiveram 40% de prenhez para ambos os métodos e concluíram que a eficiência das técnicas foi similar, mas a inseminação transcervical causou menos estresse para os animais, pelo fato de tratar-se de um procedimento não cirúrgico.

Referências

ACRITOPPOULOU, S.; HARESING, W. Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF-2 α given at different stages of the oestrus cycle. **Journal of Reproduction and Fertility**, Colchester, v. 58, n. 1, p. 219-223, 1980.

ANEL, L.; KAABI, M.; ABROUG, B.; ALVAREZ, M.; ANEL, E.; BOIXO, J.C.; DE LA FUENTE, L.F.; DE PAZ, P. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. **Theriogenology**, Montgomery, v. 63, p. 1235-1247, 2005.

AUSTIN, E.J.; MIHM, M.; RYAN, M.P.; WILLIAMS, D.H.; ROCHE, J.F. Effects of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrous and fertility in heifers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 77, p. 2219-2226, 1999.

BARTLEWSKI, P.M.; BEARD, A.P.; COOK, S.J.; RAWLINGS, N.C. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, Colchester, v. 113, p. 275-285, 1998.

BATHAEI, S.S. Breeding season and oestrous activity of Iranian fat-tailed Mehraban ewe lambs. **Small Ruminant Research**, Little Rock, v. 22, p. 13-23, 1996.

BELLING, T. H. Preparation of the teaser bull for use in beef cattle artificial insemination program. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 138, n. 12, p. 670-672, 1961

BODIN, L.; DRION, P.V.; REMY, B.; BRICE, G.; COGNIE, Y.; BECKERS, J.F. Anti-PMSG antibody levels in sheep subjected annually to estrus synchronization. **Reproduction Nutrition Development**, Les Ulis, v. 37, p. 651-660, 1997.

BOLAND, M.P.; CROSBY, F.; CALLAGHAN, D.; Artificial control of the breeding season in ewes. **Irish Veterinary Journal**, Dublin v.43, p.2-6, 1990.

BOSCOS, C.M.; SAMARTZI, F.C.; DELLIS, S.; ROGGE, A.; STEFANAKIS, A. E.; KRAMBOVITIS, E. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. **Theriogenology**, Montgomery, v. 58: 1261-1272. 2002.

BOUCINHAS, C.C.; SIQUEIRA, E.R.; SIRLEI, A.M. Dinâmica do peso e da condição corporal e eficiência reprodutiva de ovelhas da raça Santa Inês e mestiças Santa Inês-Suffolk submetidas a dois sistemas de alimentação em intervalos entre partos de oito meses. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 904-909, maio/jun. 2006.

BOUNDY, T., COX, J. Vasectomy in the ram. **Practice Online by British Veterinary Association**, London. v. 18, n. 7, p. 330-334, 1996.

CARNEIRO, M.I. Preparação de rufiões bovinos. Técnicas cirúrgicas para formação de novo óstio prepucial. **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 1, p. 2-24, 1975.

CASTONGUAY, F.; DUFOUR, J.J.; MINVIELLE, F.; ESTRADA, R. Follicular dynamics and dominance in Boorola x Finnish Landrace and Boorola x Suffolk ewes heterozygous for the F gene. **Journal of Reproduction and Fertility**, Colchester, v.89, p.193-203, 1990.

COELHO, L.A.; RODRIGUES, P.A.; SASA, A. et al. Concentrações plasmáticas de progesterona em borregas lanadas e deslanadas durante a estação reprodutiva. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2000b. p. 153.

COOPER, M.J.; FURR, B.J. Control of oestrus cycle of heifers with synthetic prostaglandin analogue. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 94, p. 61, 1974.

CROY, B.A.; PRUDENESTRO, J.; MINHAS, K. Preliminary study on the usefulness of hull-8 in cervical relaxation of the ewe for artificial insemination and for embryo transfer. **Theriogenology**, Montgomery, v. 52, p. 271-287, 1999.

DELIGIANNIS, C.; VALASI, I.; REKKAS, C.A.; GOULAS, P.; THEODOSIADOU, E.; LAINAS, T.; AMIRIDIS, G.S. Synchronization of Ovulation and Fixed Time Intrauterine Insemination in Ewes. **Reproduction in Domestic Animals**, Uppsala.. v. 40, n. 1, p. 6-10, 2005.

DYRMUNDSSON, Ó.R.; LEES, J.L. Effect of rams on the onset of breeding activity in Clun Forest ewe lambs. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 79, p. 269-271, 1972.

EURIDES, D.; PIPPI, N.L. Preparação de rufiões bovinos pela fixação da curvatura caudal da flexura sigmóide do pênis. **Revista Centro Ciências Rurais**, Santa Maria, v. 13, n. 1, p. 83-93, 1983.

EURIDES, D.; CONTESINI, E.A. VIANA, S.M. Preparação de rufiões bovinos por remoção do ligamento apical do pênis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 22, n. 2, p. 185-189, 1992.

EVANS, A.C.O.; DUFFY, P.; CROSBY, T.F.; HAWKEN, P.A.R.; BOLAND, M.P.; BEARD, A.P. Effect of ram exposure at the end of progestagen treatment on estrus synchronisation and fertility during the breeding season in ewes. **Animal Reproduction Science**, Newcastle, v. 84, p. 349-358, 2004.

EVANS.G.; MAXWELL, W.M.C. **Salamo's artificial insemination of sheep and goats**. Sydney: Butterworths, 1987. 194 p.

FERNANDES, C.A.C.; FIGUEIREDO, A.C.S. Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 406-414, jul./set. 2007

GOODMAN, R.I.; KARSCH, F.J. Pulsatile secretion of luteinizing hormone – Differential suppression by ovarian steroids. **Endocrinology**, Palo Alto, v. 107, p 1286–1290, 1980.

GOODMAN, R.I.; HITTMAN, E.I.; FOSTER, D.I.; KARSCH, F.J. Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underline the sazonal variation in estradiol negative feedback in the ewe. **Biology of Reproduction**, Pittsburgh. v. 27, p 580–590, 1982.

GUSMÃO, A.L.; MOURA, J.C.A. Transferência de embriões em caprinos e ovinos. **Acta Scientiae Veterinae**, Porto Alegre, v.33, suppl. 1, p. 29-33, 2005.

HAFEZ, E.S.E. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. Part I: the breeding season in different environments. Part II: the breeding season in one locality. Part III: the breeding season and artificial light. Part IV: studies on the reproduction of the ewe. Part V: mating behavior and pregnancy diagnosis. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge. v. 42, p. 189-265, 1952.

HAFEZ, E.S.E.; JAINUDEEN, M.R.; ROSNINA, Y. Hormônios, fatores de crescimento e reprodução. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 2004. cap. 3, p. 33–53.

HARE, L.; BRYANT, M.J. Characteristics of oestrous cycles and plasma progesterone profiles of young female sheep during their first breeding season. **Animal Production**, Midlotian. v. 35, p. 1-7, 1982.

HEAPE, W. The sexual season of mammals. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, Cambridge, v. 44, p. 1-44, 1990.

HORTA, A.E.M.; GONÇALVES, S.C. Bioestimulação pelo efeito macho na indução e sincronização da actividade ovárica em pequenos ruminantes. In: XVI CONGRESSO DE ZOOTECNIA, 16., 2006, Castelo Branco. **Proceedings...** Castelo Branco: APEZ, 2006. p. 95-108.

JAINUDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. Sheep and Goat. In: HAFEZ, E.S.E. **Reproduction in farm animals**. 6th ed. Philadelphia: Lea e Fabiger, 1993. p. 330-342.

KNIGHTS, M.; HOEHN, T.; LEWIS, P.E.; INSKEEP, E.K. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. **Journal of Animal Science**, Savoy. v. 79, p. 1120-1131, 2001.

LINDSAY, D.R. Reproduction in sheep and goat. In: CUPPS, P.T. **Reproduction in domestic animals**. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1991. p. 491-515.

LOPEZ-SEBASTIAN, A. Descarga preovulatória de LH y momento de la ovulación en ovejas com cello inducido mediante progestágenos y PMSG. **Tropical Animal Health and Production**, Amsterdam, v. 6, p. 123-130, 1991.

LÓPEZ-SEBASTIAN A.; GONZÁLEZ-BULNES, A.; CARRIZOSA, J.A.; URRUTIA, B.; DIÁZ-DELFA, C.; SANTIAGO-MORENO, J.; GÓMEZ-BRUNET, A. New estrus synchronization and artificial insemination protocol for goats based on male exposure, progesterone and cloprostenol during the non-breeding season. **Theriogenology**, Montgomery, v. 68, p. 1081–1087, 2007.

LUCIDI, P.; BARBONI, B., MATTIOLI, M. Ram-induced ovulation to improve artificial insemination efficiency with frozen semen in sheep. **Theriogenology**, Montgomery, v. 55 p. 1797–1805, 2001.

MARTIN, G.B.; RODGER, J.; BLACHE, D.; Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**. Collingwood, v.16, p.491-501, 2004.

MARTIN, G.B.; OLDHAM, C.M.; COGNIE, Y.; PEARCE, D.T. The physiological response of anovulatory ewes to the introduction of rams - a review. **Livestock Production Science**. Christchurch, v. 15, p. 219- 247. 1986.

MENEZES, L.M.; BRAUNER, C.C.; PIMENTEL, M.A.; AMARAL, F.A.; MACHADO, J.P.M.; MORAES, J.C.F.; FIGUEIREDO, R.C. Efeito de diferentes métodos de bioestimulação sobre o desempenho ponderal e reprodutivo de novilhas de corte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Anais...** Gramado, 2008.

MIHM, M.; BAGUISI, A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **Journal Reproduction and Fertility**. Colchester, v. 102, p. 123-130, 1994.

MIHM, M.; CURRAN, N.; HYTTEL, P.; KNIGHT, P.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. **Journal Reproduction Fertility**, Colchester, v.116, p. 293-304, 1999.

MINTON, J.E., COPPINGER, T.R., SPAETH, C.W.; MARTIN, L.C. Poor reproductive response of anestrus Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 69, p. 3314-3320, 1991.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONÇALVES, P.D.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. (Ed.). **Biotécnicas aplicadas a reprodução animal**. São Paulo: Varela, 2002. cap. 3, p. 25-35.

PANT, H.C.; HOPKINSON, C.R.N.; FITZPATRICK, R.J. Concentrations of oestradiol, progesterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the jugular venous plasma of ewes during the oestrus cycle. **Journal Endocrinology**, Bristol, v. 74, p. 247-255, 1977.

PEARCE, G.P.; OLDHAM, C.M. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**. Colchester, v. 84, p. 333-339, 1988.

PINEDA, M.H. Reproductive patterns of sheep and goat. In: McDONALD, L.E. **Veterinary endocrinology and reproduction**. 4th ed. Philadelphia: Lea e Fabige, 1989. p. 428-447.

QUIRKE, J.F. Onset of puberty and oestrus activity in Galway, Finnish Landrace and Finn-cross ewe lambs during their first breeding season. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 17, p. 15-23, 1978.

RABASSA, V.R.; TABELEÃO, V.C.; PFEIFER, L.F.M.; SCHNEIDER, A.; ZIGUER, E.A.; SCHOSSLER, E.; SEVERO, N.C.; DEL PINO, F.A.B.; CORRÊA, M.N. Efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo-fixo. **Ciência Animal Brasileira**, Goiania, v. 8, n. 1, p. 127-133, jan./mar. 2007

REKWOT, P.I.; OGWU, D.; OYEDIPE, E.O.; SEKONI, V.O. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. **Animal Reproduction Science**. Newcastle, v. 65, p. 157-170, 2001.

ROBINSON, T.J. Estrus cycle of the ewe and doe. In: COLE, H.H.; CUPPS, P.T. **Reproduction in domestic animals**. New York: Academic Press, 1959. 59 p.

_____. **The control of the ovarian cyclic in sheep**. Sydney: University Press, 1967. 258 p.

ROBINSON, T.J.; MOORE, N.W.; LINDSAY, D.R.; FLETCHER, I.C.; SALAMON, S. Fertility following synchronization of oestrus in the sheep with intravaginal sponges. I Effects of vaginal douche, supplementay steroids, time of insemination, and numbers and dilution of spermatozoa. **Australian Journal of Agricultural Reserch**, Collingwood. v. 21, p. 767-781, 1970.

ROCHE, J.F.; AUSTIN, E.J.; RYAN, M.; O'ROURKE, M.; MIHM, M.; DISKIN, M.G. Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, Colchester. v. 54, p. 61-71, 1999.

ROSA, H.J.D.; BRYANT, M.J. The "ram effect" as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. **Small Ruminant Reserch**, Little Rock, v. 45, p. 1-16, 2002.

ROSA, H.J.D.; JUNIPER, D.T.; BRYANT, M.J. The effect of exposure to oestrous ewes on rams' sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonaly anoestrous ewes. **Applied Animal Behaviour Science**, Berkeley, v. 67, p. 293-305, 2000.

ROYES, B.A.P.; BIVIN, W.S. Surgical displacement of the penis in the bull. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg. v. 16, n. 1, p. 56-57, 1973.

RUBIANES, E. Control farmacológico del ciclo estral en caprinos y ovinos. In: CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2000a. p. 255-282.

_____. Nociones básicas de fisiología reproductiva em cabras y ovejás. IN: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000, São Paulo. **Anais...** São Paulo: USP, FMVZ, 2000b.

SANTOS, C.S.A. dos. **Influência do efeito macho no tratamento de sincronização de estros em ovelhas**. 2007. 51p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa”, Lisboa. 2007.

SASA, A. **Perfis sazonais das concentrações plasmáticas de progesterona, prolactina e melatonina de ovelhas criadas em baixas latitudes**. 2006. 50 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassunga. 2006.

SIGNORET, J.P. Sexual pheromones in the domestic sheep: Importance and limits in the regulation of reproductive physiology. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, Neuherberg, v.39, issue 4, pt. 2, p. 639-645, 1991.

SOUSA, D.B. **Viabilidade do sistema Equitainer® na refrigeração do sêmen ovino avaliado pelas análises computadorizada, de microscopia epifluorescente e inseminação artificial**. 2002. 104 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Botucatu, 2002.

STOCK, A.E.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**, Palo Alto, v. 132, p. 1108-1114, 1993.

TRALDI, A.S. Produção de ovinos: aspectos reprodutivos dos ovinos. In: _____. **Performance reprodutiva dos ovinos deslanados no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 1990. p. 81-124.

_____. Biotécnicas aplicadas em reprodução de pequenos ruminantes. In: FEIRA INTERNACIONAL DE CAPRINOS E OVINOS, 3., 2006, São Paulo. **Palestra...**

TSAI, S.J.; WILTBANK, M.C. Prostaglandin F_{2α} induces expression of prostaglandin G/H synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis. **Biology of Reproduction**, Pittsburgh. v. 57, p 1016–1022, 1999.

WATSON, R.H.; RADFORD, H.M. The influence of rams on onset of oestrus in Merino ewes in the spring. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 11, p. 65-71, 1960.

ZARCO, L.; STABENFELDT, G.H.; QUIRKE, J.F.; KINDAHL, H.; BRADFORD. G.E. Release of prostaglandin F-2 and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrus cycles of different lengths. **Journal of Reproduction and Fertility**, Colchester, v. 83, p. 517-526, 1988.

3 EFEITO MACHO EM OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS SOBRE A DETECÇÃO E TEMPO MÉDIO PARA APRESENTAÇÃO DO ESTRO, E TAXA DE PREENHEZ NA IATF

Resumo

A inseminação artificial é uma biotécnica que propicia uma grande variação de resultados, que pode ser associada à ovelha não exteriorizar facilmente sinais de estro, como nas outras espécies de ruminantes. Com o desenvolvimento dos protocolos de sincronização de estro/ovulação, foi possível a realização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O presente estudo procurou avaliar os efeitos da bioestimulação com dois tipos de rufiões sobre um protocolo de sincronização de estro. Foram utilizadas 270 ovelhas da raça Santa Inês, com 60 ± 10 d pós-parto e escore de condição corporal de $3,15 \pm 0,45$ (1-5). As ovelhas foram separadas em três grupos que receberam os seguintes tratamentos: SM (controle) não recebeu rufiões; DL = recebeu rufiões com desvio lateral do pênis e VS = recebeu rufiões vasectomizados. Todos os tratamentos foram submetidos ao mesmo protocolo, dispositivo intra-vaginal de progesterona (Eazi-Breed - CIDR[®] – Pfizer – Nova Zelândia) por 7d, aplicação i.m. de 300 UI de eCG (Folligon[®], Intervet, Holanda) e 6,71 mg de Dinoprost trometamina (Lutalyse[®], Pfizer do Brasil – São Paulo) no dia da retirada do CIDR. As ovelhas foram inseminadas em tempo fixo (55h) após a retirada dos dispositivos, por meio da inseminação transcervical com sêmen refrigerado e utilizado no mesmo dia. O delineamento experimental foi blocos incompletos casualizados. O aparecimento do estro foi de 55,7% para DL e 50,5% para VS ($P > 0,05$). Similarmente, a distribuição do estro, foi similar entre os tratamentos, onde as médias encontradas foram de 45:01 \pm 14:30h para DL e 44:00 \pm 12:10h para VS ($P > 0,05$). A taxa de prenhez também não diferiu ($P > 0,05$) entre os tratamentos, e foi de 34,0, 34,4 e 35,0 % para DL, VS e SM, respectivamente. A inseminação artificial por via transcervical demonstrou valores abaixo do esperado. O efeito macho não apresentou influência na taxa de prenhez na IATF.

Palavras-chave: Efeito macho; Ovelhas; CIDR; Sincronização; IATF

Abstract

Artificial insemination in sheep is a biotechnology that provides a wide range of results. This variation can be associated with estrus signs that are not easily shown by the ewe, as in other ruminant females. With the development of protocols for estrus

synchronization/ovulation, it has been possible to use fixed-time artificial insemination (FTAI). Two hundred and seventy Santa Inês ewes (60 ± 10 d postpartum and body condition score of 3.15 ± 0.45) were used to determine the effects of biostimulation with two types of teasers on onset of estrus and pregnancy rate. Ewes were divided into three groups and assigned to one of the following treatments: SM (control) no teaser; DL = teasers with lateral deviation of penis and VS = vasectomized teasers. All groups were subjected to the same protocol using a slow release progesterone device (Eazi-Breed - CIDR® - Pfizer - New Zealand) for 7d and i.m. injection of 300 IU of eCG (Folligon®, Intervet, Netherlands) and 6.71 mg tromethamine dinoprost (Lutalyse®, Pfizer Brazil - São Paulo) at CIDR withdrawal. All ewes were transcervically inseminated at fixed-time (55h) after CIDR withdrawal. The semen used was chilled and harvested in the same day. The experimental design was an incomplete randomized block. There was no difference on onset of estrus for LD (55.7%) and VS (50.5%). Similarly, the distribution of estrus was similar ($P > 0.05$) between treatments, where the averages were of 45:01 \pm 14:30 h for LD 12:10 h and 44:00 \pm 12:10h for VS. Pregnancy rate did not differ ($P > 0.05$) among treatments and was 34.0, 34.4 and 35.0% for LD, VS and SM, respectively. Transcervical artificial insemination showed lower values than expected. The male effect showed no influence on pregnancy rate when fixed-time artificial insemination was used.

Keywords: Ram effect; Ewes; CIDR; Estrus synchronization; FTAI

3.1 Introdução

A ovinocultura no Estado de São Paulo é uma atividade que vem crescendo nos últimos anos principalmente devido à grande procura pela carne ovina (FERNANDES, 1999). Entretanto, o sucesso dessa atividade é determinado, entre outros fatores, pela taxa de produção de cordeiros para abate, que varia em função do número de matrizes e seu subsequente desempenho reprodutivo. A reprodução na ovelha também é afetada por vários fatores, dentre eles a estacionalidade reprodutiva e o estado nutricional (DYRMUNDSSON, 1973). A produção de carne ovina no estado de São Paulo baseia-se em raças exóticas, caracterizadas por apresentarem estacionalidade reprodutiva. Este detalhe pode dificultar a disponibilização de carne ao longo de todo ano, conforme exige o mercado atual. As raças sem anestro sazonal facilitam a diminuição do intervalo de partos, podendo-se ter como objetivo a obtenção de três partos a cada dois anos (BOUCINHAS, 2006). Além disso, em sistemas intensivos de reprodução, que têm como objetivo, partos em blocos ou três partos a cada dois anos,

a sincronização de estro em ovinos torna-se uma ferramenta importante (MORAES; SOUZA; GONÇALVES, 2002).

Para que haja um crescimento sustentável da ovinocultura, deve-se ter aumento de produção, com incremento genético e padronização de carcaças. É importante a pesquisa de novos conceitos e soluções para os problemas encontrados pela maioria dos produtores. A inseminação artificial (IA) é uma biotécnica que propicia uma grande variação de resultados, contudo possui um papel muito importante para o melhoramento dos índices zootécnicos. Quando utilizada em programas de sincronização do estro pode-se descrever inúmeros benefícios melhorar a genética do rebanho, produção de cordeiros precoces, diminuir o número de carneiros na propriedade, condensar a estação de monta e parição, produzindo assim lotes de animais homogêneos para venda e abate.

Em associação à sincronização de estro, pode-se utilizar a bioestimulação ou *efeito macho*. É uma prática que consiste no condicionamento das fêmeas a um período mínimo de 30d de isolamento visual, olfativo e auditivo dos machos, seguido da introdução dos mesmos (THIMONIER et al.; 2000). O emprego do *efeito macho* na fisiologia reprodutiva está relacionado à sincronização de estros com ovulação em ovelhas durante anestro estacional (MIES FILHO, 1975), à concentração de partos em borregas e ovelhas submetidas à monta durante o anestro estacional (MORAES, 1991; OTTO et al., 1998), à antecipação e sincronização da manifestação da puberdade (DYRMUNDSSON; LEES, 1972) e também a possibilidade da redução da duração do estro (LYNDSAY; SIGNORET, 1980).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do uso e do tipo de rufião, antes da estação de monta sobre ovelhas paridas da raça Santa Inês submetidas a sincronização do estro, na taxa de detecção e tempo médio para apresentação do estro, na taxa de prenhez na IATF.

As hipóteses do trabalho são: O efeito macho influencia a taxa de prenhez na IATF, em ovelhas da raça Santa Inês, promovendo melhoria na prenhez; O rufião vasectomizado exerce influência na bioestimulação de ovelhas da raça Santa Inês, promovendo um aumento na taxa de prenhez na IATF.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Localização e Período Experimental

O estudo foi realizado na Fazenda Pinhalzinho de propriedade do Engenheiro agrônomo Arnaldo Lima e outros, situada no município de Araras – SP. O clima da região é considerado tropical quente com chuvas concentradas no verão e inverno seco, sendo que a propriedade está localizada em latitude 22° 21'S e longitude 47° 23' W. O período experimental foi no fim de dezembro/2006 e janeiro/2007.

3.2.2 Animais e Alimentação

Utilizou-se 270 ovelhas da raça Santa Inês, com 60 ±10 dias pós-parto, idade de 3,5 ±1,5 anos, escore corporal médio de 3,15 ±0,45 (1-5). As ovelhas foram alimentadas com uma ração completa contendo silagem de milho e concentrado formulada de acordo com o SRNS (Small ruminant nutrition system) e foram alojadas em galpões com piso cimentado, bebedouro e mistura mineral *ad libitum*.

As ovelhas foram desmamadas no início do experimento.

3.2.3 Rufiões

Para a confecção dos rufiões foram utilizados 12 carneiros da raça Santa Inês com idade média de 8m. Todos os carneiros foram submetidos ao processo cirúrgico, onde foi realizada a vasectomia segmentando os ductos deferentes na base do saco escrotal. Além disso, seis rufiões vasectomizados foram submetidos ao processo cirúrgico onde foi realizado o desvio peniano à 45 graus da linha média do animal, processo este que impede que haja penetração do pênis no momento da montada. Os rufiões foram confeccionados 90d antes do início do experimento, inseridos nos lotes 30d antes da sincronização, permanecendo com as ovelhas até o término da observação de estro (77h após a retirada do CIDR), os rufiões foram alocados obedecendo os tratamentos e à proporção de 1 macho para cada 25 ovelhas.

3.2.4 Tratamentos

As ovelhas foram separadas em três grupos, que receberam os seguintes tratamentos: SM (n = 80) = sem macho (controle); DL (n = 97) = receberam 30 dias antes da sincronização rufiões com desvio lateral de pênis e vasectomizados; VS (n = 93) = receberam 30d antes da sincronização rufiões vasectomizados. O delineamento experimental utilizado foi de blocos incompletos ao acaso. As ovelhas foram alocadas de acordo com o número de partos, período pós-parto, tipo de parto (simples ou gemelar), escore de condição corporal e peso corporal.

3.2.5 Sincronização do Estro

As ovelhas foram sincronizadas com dispositivo intra-vaginal de progesterona (Eazi Breed - CIDR[®], Pfizer, Nova Zelândia) sendo o dia de inserção do dispositivo considerado dia zero (D0). O protocolo de sincronização utilizado no estudo (Figura 1) foi o recomendado pelo fabricante, o qual consiste na colocação do CIDR[®] (D0) e retirado 7d após (D7), com aplicação intramuscular de 300 UI de eCG (Folligon[®], Intervet - Holanda) e 6,71 mg de Dinoprost trometamina (Lutalyse[®], Pfizer do Brasil – São Paulo). Após a retirada do dispositivo as ovelhas dos grupos VS e DL continuaram com seus respectivos rufiões para auxiliarem na observação visual do cio, que foi ininterrupta por 77h após a retirada do dispositivo.

O sêmen utilizado nas inseminações foi obtido através da colheita com o auxílio de uma vagina artificial de três carneiros selecionados no rebanho da propriedade. Utilizou-se dois machos da raça Dorper e um macho da raça Santa Inês. Os reprodutores foram submetidos à avaliação da qualidade espermática através de um exame andrológico onde deveriam apresentar as seguintes condições mínimas: turbilhonamento 3 (1 a 5), motilidade progressiva 70% (0 a 100%), vigor 3 (1 a 5), 80% de espermatozoides normais e concentração espermática de 2,5 milhões/mm³. Após a avaliação do sêmen, foi acrescido a ele o diluente gema/água de coco (MIES FILHO; DUTRA e GIRÃO, 1982) até a concentração de 3×10^8 , resfriado e posteriormente envasado em palhetas de 0,25 mL, para realização da IA no mesmo dia. A cada hora o

sêmen era submetido a uma avaliação, para verificação das condições mínimas citadas acima, sendo que não se observou necessidade de novas colheitas.

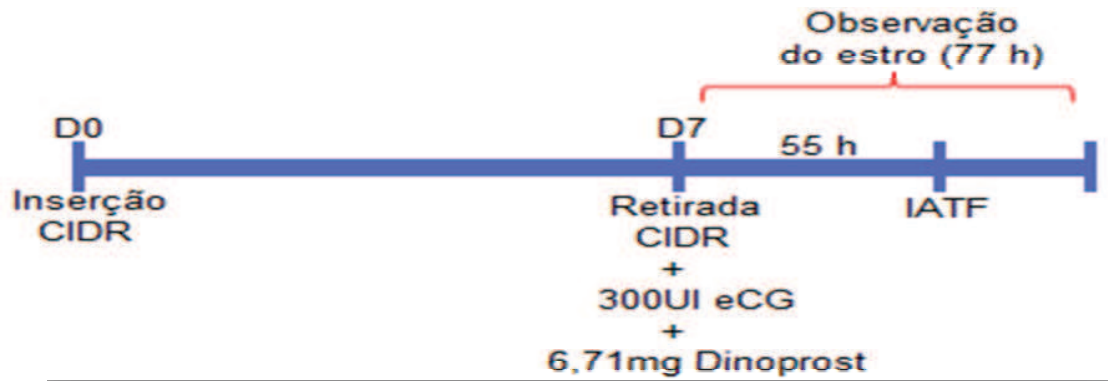


Figura 1 - Protocolo recomendado pelo fabricante do dispositivo. Onde o CIDR[®], é inserido na vagina da ovelha no D0, ele permanece no interior da vagina até o sétimo dia, quando é retirado. Concomitantemente à retirada, é realizada a aplicação por via intramuscular de 300 UI eCG (1,5 ml de Folligon[®]) e 6,71 mg de dinoprost trometamina (1,0 ml de Lutalyse[®]), sendo iniciada a observação de estro por 77h. A IATF ocorreu 55h após a retirada do dispositivo

Cada grupo foi subdividido em 3 lotes e procedeu-se um escalonamento da sincronização e IATF totalizando 3 dias, de maneira que à cada dia era inseminado um lote de cada tratamento, e dentro deste, foi distribuído aleatoriamente os três carneiros utilizados.

3.2.6 Inseminação Artificial

Todas as ovelhas foram inseminadas pelo mesmo inseminador. A IATF foi realizada em 55 horas após a retirada do CIDR[®] à sombra. Para realização da IA utilizou-se cavaletes, com a superfície superior côncava. Os animais no momento da inseminação foram colocados em decúbito ventral sobre a superfície do cavalete, contidos com auxílio de dois ajudantes, permanecendo em uma inclinação de 45°.

A inseminação iniciou-se com a assepsia da vulva do animal e introdução do espéculo contendo iluminação própria, para facilitar a visualização do óstio cervical. A introdução do aplicador quando possível se deu até o início do corpo do útero, quando então se depositou o sêmen realizando assim a inseminação. Quando a introdução do aplicador não foi completa, o sêmen foi depositado no canal cervical.

3.2.7 Diagnóstico de Prenhez

O diagnóstico de prenhez foi realizado 55 dias após a IATF, com o auxílio de um aparelho de ultrasonografia (Honda - HS-1500 – Echo – São Paulo), com a utilização de uma probe linear (5,5 – 7,5 Mhz) via retal e/ou trans-abdominal.

3.2.8 Análise Estatística

Os dados referentes a taxa de prenhez IATF ou repasse foram analisados através do procedimento GENMOD do programa estatístico SAS (1999) e realizou-se o teste de Qui-quadrado a 5%. Já os dados referentes à distribuição e aparecimento de estro foram analisados pelo procedimento GLM do mesmo programa, sendo realizado o teste de Tukey. Admitiu-se um nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

3.3 Resultados e Discussão

A taxa de detecção de estro não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos (Tabela 1), e a média foi de 55,7% e 50,5% para dos tratamentos DL e VS, respectivamente (Figura 2). O tratamento SM, não possui os dados de taxa de detecção e tempo médio para aparecimento do estro, pelo fato de que este tratamento não recebeu rufiões, impossibilitando assim a visualização dos sinais de estro.

Os trabalhos publicados até o presente momento, sempre procuraram avaliar a utilização do efeito macho na sincronização do estro de ovelhas, no início da estação de monta ou em protocolos de sincronização do estro. Porém não foram encontrados trabalhos avaliando o efeito do tipo de rufião na bioestimulação de ovelhas.

Tabela 1 – Porcentagem de detecção e tempo médio para o aparecimento do estro, após a retirada do dispositivo vaginal e taxa de prenhez na IATF das ovelhas submetidas aos tratamentos experimentais

	Tratamentos ¹		
	DL	VS	SM
Detecção do estro	54/97 (55,7)	47/93 (50,5)	***
Tempo Médio (h)*	45:01 ±14:30	44:00 ±12:10	***
Taxa de Prenhez IATF**	33/97 (34,0)	32/93 (34,4)	28/80 (35,0)

¹ Tratamentos: DL = Rufião com desvio lateral, VS = Macho vasectomizado, SM = Sem macho. Valores entre parênteses são apresentados em porcentagem; * Tempo médio em horas da retirada do dispositivo vaginal até a detecção do estro. **Taxa de prenhez na IATF. *** Estro não observado. Valores entre parênteses são apresentados em porcentagem

Com relação ao protocolo de sincronização utilizado. Os resultados estão de acordo, com os encontrados por Daniel et al. (2001) onde ovelhas que receberam o CIDR durante o período de 8 dias, apresentaram 50% de manifestação de estro após introdução de rufiões seguido à retirada do dispositivo intra-vaginal. Maxwell e Barnes (1986) também observaram aproximadamente 50% das ovelhas em estro após a retirada do dispositivo progestágeno mantido durante 12 e 14d em associação à aplicação de eCG. Entretanto, o estro ocorreu às 36h (MAXWELL; BARNES, 1986) e 48 horas (DANIEL et al., 2001) após a retirada dos dispositivos. Por outro lado, Dias et al. (2001), encontraram valores superiores (70,9%) aos obtidos no presente trabalho. Os mesmos autores também observaram que de acordo com o aumento da dose de eCG o percentual do aparecimento de estro aumentou linearmente. Neste mesmo estudo os pesquisadores encontraram um percentual de estro de 76,7% e 96,7% para dosagens de 200 e 400 UI de eCG, respectivamente. Quanto ao tempo para apresentação do estro quanto maior a dosagem menor foi o período para manifestação de estro, tendo em média 44:36 ±10:06 horas.

O tempo médio para realização da IATF, após a retirada do CIDR, não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$) e a média foi de 55:09 ± 1:42h. A IATF foi executada exatamente no horário recomendado pelo fabricante do CIDR.

Não houve diferença nas médias encontradas para detecção de estro ($P > 0,05$) para os tratamentos DL e VS. Estes dados estão de acordo com Dias et al. (2001), Ungerfeld; Rubianes (2002), Leyva; Buckrell; Walton (1998) que encontraram valores semelhantes. Assim sendo Leyva; Buckrell; Walton (1998) observaram que o pico de LH ocorreu, dentro de 4 a 8h após o início do estro não sincronizado, já o pico de LH após o tratamento com P_4 e eCG ocorreu em $45:00 \pm 0:54h$ e a ovulação $66:00 \pm 0:42h$ após a retirada do dispositivo intra-vaginal. Resultados semelhantes também foram encontrados por Martínez-Tinajero et al. (2008), que trabalharam com a sincronização de ovelhas F1 (Damara x Merino) com CIDR por 12d, associado com a aplicação de GnRH no momento da retirada do dispositivo. Sendo que o tempo médio para apresentação do estro foi de $43:51 \pm 5:25h$.

No uso de protocolo de sincronização de estro Pearce; Oldham (1983) e Neves; Luz (1994), determinaram que a dose de eCG esteja relacionada com a diminuição do tempo médio para apresentação do estro, isto ocorre devido a gonadotrofina provocar um aumento na concentração de estrógeno, induzindo um aparecimento precoce do estro e do pico pré-ovulatório de LH e FSH.

Ungerfeld; Forsberg; Rubianes (2004) descrevem que a estimulação de fêmeas cíclicas pelos machos, resulta em uma antecipação do início do estro, da descarga de LH e das ovulações, bem como no aumento da taxa de prenhez. Assim o estímulo prévio do macho poderá ter atuado sobre o eixo hipotálamo-hipofisário levando a uma maior produção e frequência de descargas de GnRH/LH. Contudo está é apenas uma especulação, pois no presente trabalho não foram inseridos rufiões no tratamento SM.

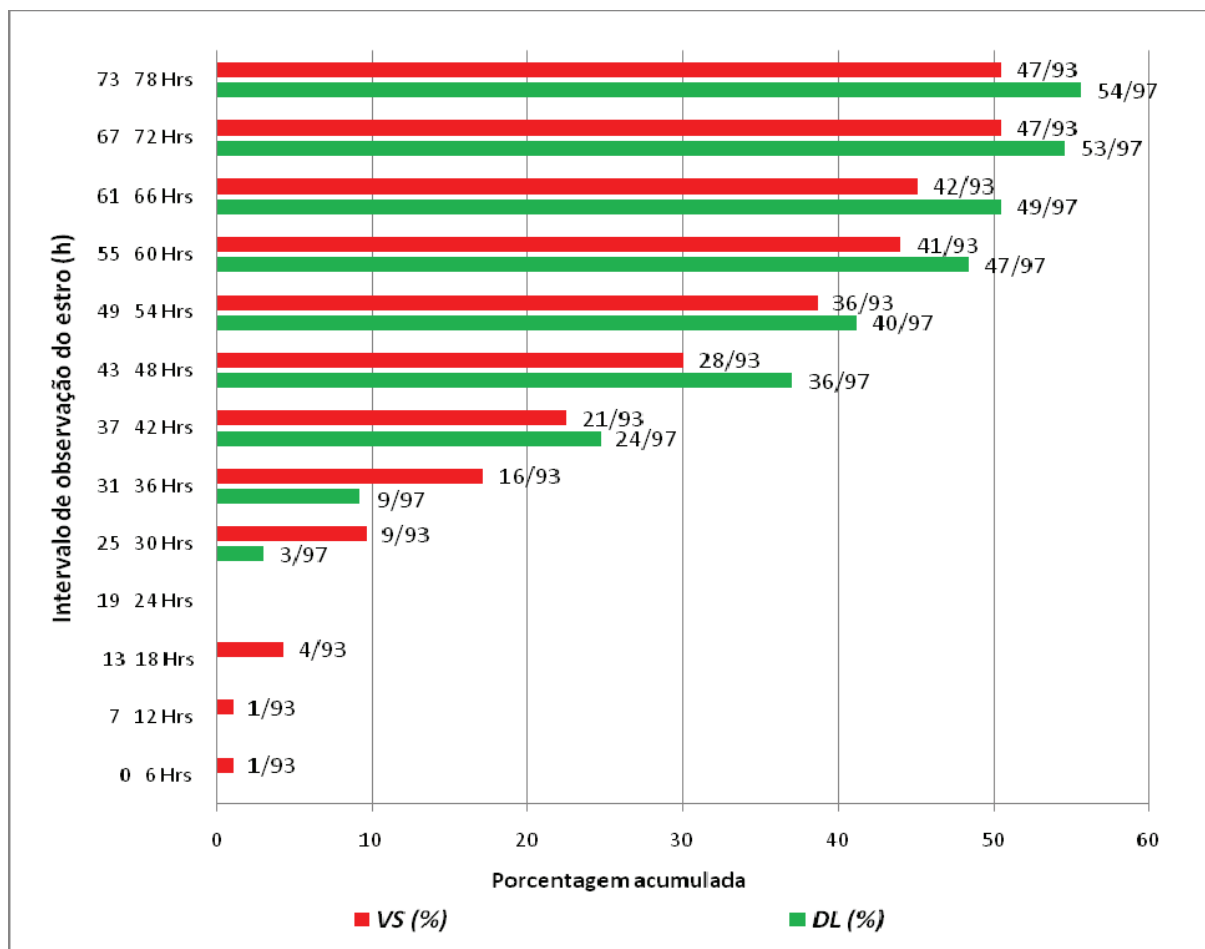


Figura 2 - Dados acumulados da detecção de estro estratificado ao longo do tempo a partir da retirada do CIDR, de acordo com os tratamentos. VS= recebeu rufiões vasectomizados 30 dias antes do início do protocolo e DL= recebeu rufiões com desvio peniano lateral, 30d antes do início do protocolo de sincronização do estro

A taxa de prenhez na IATF não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$), e a média foi de 34,4% (Tabela 1). Chemineau et al. (2006) afirmaram que é muito difícil verificar o efeito macho em rebanhos com mais 50% das ovelhas que apresentem ciclicidade. No presente experimento apesar de não ter sido ainda realizado a dosagem de progesterona, para verificar a ciclicidade das ovelhas, acredita-se que a maior parte delas já estavam ciclizando no início do experimento, uma vez que a raça Santa Inês não

apresenta sazonalidade reprodutiva, e as ovelhas apresentavam uma condição corporal de 3,15 (1 à 5). Assim sendo, justifica-se a ausência do efeito macho.

A taxa de prenhez na IATF obtida no presente experimento, apesar de ser considerada baixa, ela é semelhante a encontrada por Dias et al. (2001) ao trabalharem com doses de eCG em ovelhas sincronizadas por 12 dias com esponjas impregnadas com fluogestrona, também encontraram resultados semelhantes, ou seja 33%, porém as ovelhas receberam 200UI de eCG, e foram inseminadas por laparoscopia com sêmen congelado.

A fertilidade após a IA transcervical é influenciada pelo local de deposição do sêmen no interior do trato genital da ovelha, podendo a taxa de prenhez variar de 25 à 70% (EPPLESTON; MAXWELL, 1993). Em estudo realizado por Machado et al. (2006), procuraram avaliar os métodos de IA via transcervical e laparoscópica. Os autores encontraram diferença significativa na taxa de prenhez, e as médias foram de 35,7 e de 71,8% para a IA transcervical e laparoscópica, respectivamente. Resultados superiores ao método transcervical vem sendo obtidos através da tração da cérvix, que consiste em pinçar a cérvix e traciona-lá próximo a abertura da vulva, permitindo assim a manipulação para transpor a cérvix e depositar o sêmen no meio corpo do útero. Monreal et al. (2008), ao trabalharem com 61 ovelhas $\frac{1}{2}$ Texel, sincronizadas com CIDR, 300UI de eCG, PGF2 α e inseminadas utilizando o método transcervical tracionado, obtiveram taxa de prenhez de 81%, resultado muito superior ao encontrado no presente experimento.

3.4 Conclusões

A bioestimulação através do uso de rufiões, não apresentou diferença significativa na taxa de detecção e no tempo médio para aparecimento do estro.

O uso de rufiões com desvio lateral do pênis e rufiões vasectomizados não interferiu na taxa de prenhez na IATF.

Referências

- BOUCINHAS, C.C.; SIQUEIRA, E.R.; SIRLEI, A.M. Dinâmica do peso e da condição corporal e eficiência reprodutiva de ovelhas da raça Santa Inês e mestiças Santa Inês-Suffolk submetidas a dois sistemas de alimentação em intervalos entre partos de oito meses. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 904-909, maio/jun. 2006.
- CHEMINEAU, P.; PELLICER-RUBIO, M.T.; LASSOUED, N.; KHADI, G.; MONNIAUX, D. Male-induced short oestrus and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. **Reproduction Nutrition Development**, Les Ulis, v. 46, p. 417-429, 2006.
- DANIEL, J.A.; STERLE, S.W.; McFADIN-BUFF, E.L.; KEISLER, D.H. Breeding ewes out-of-season using melengestrol acetate, one injection of progesterone, or a controlled internal drug releasing device. **Theriogenology**, Montgomery, v. 56, p. 105–110, 2001
- DIAS, F.E.F.; LOPES JUNIOR, E.S.; VILLAROEL, A.B.S., RONDINA, D.; LIMA-VERDE, J.B.; PAULA, N.R.O.; FREITAS, V.J.F. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslançadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 5, p. 618-626, out. 2001.
- DYRMUNDSSON, Ó.R. Puberty and early reproductive performance in sheep. I. Ewe lambs. **Animal Breeding Abstracts**, Pavia, v. 41, n. 6, p. 273-284, 1973.
- DYRMUNDSSON, Ó.R.; LEES, J.L. Effect of rams on the onset of breeding activity in Clun Forest ewe lambs. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 79, p. 269-271, 1972.
- EPPLESTON, J.; MAXWELL, W.M.C. Recent attempts to improve the fertility of frozen ram semen inseminated into the cervix. **Technology and Sheep Breeding**, Collingwood, v. 3, p. 291-302, 1993.
- FERNANDES, F.M.N. A ovinocultura no contexto agropecuário paulista. In: SIMPÓSIO PAULISTA DE OVINO CULTURA, 5., 1999, Botucatu. **Anais...** p. 7–9.
- LEYVA, V.; BUCKRELL, B.C.; WALTON, J.S. Follicular activity and ovulation regulated by exogenous progestagen and PMSG in anestrus ewes. **Theriogenology**, Montgomery, v. 50, p. 377-393, 1998.
- LINDSAY, D.R.; SIGNORET, J.P. Influence of behaviour on reproduction. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 9., 1980, Madrid. **Abstracts...** v. 1, p. 83-92.

MACHADO, V.P.; NUNES, J.F.; ARAÚJO, A.A.; FERNANDÉZ, D.R.P.; CORDEIRO, M.A.; MEDEIROS, C.H.N. de; MEDEIROS, A.L.N. de; MONTEIRO, A.W.U. Fertilidade após a inseminação artificial intracervical ou laparoscópica intra-uterina de ovelhas utilizando diluidores à base de água de coco. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, p. 43-49, 2006. Suplemento.

MARTÍNEZ – TINAJERO, J.J.; TORRES-ESQUERDA, M.T.S; TORRES-HERNÁNDEZ, G.; HERRERA-HARO, J.G.; BUCIO-ALANÍS, L.; ROJO-RUBIO, R.; HERNÁNDEZ-MARTINEZ, J. Comportamiento reproductivo de ovelhas F1 (damara x merino), sincronizadas com CIDR y dos tiempos de aplicación de GnRH. **Universidad y Ciencia**, Chiapas, v.24, p.175-182, 2008.

MAXWELL, W.M.C.; BARNES, D.R. Induction of estrus in ewes using a controlled internal drug release device and PMSG. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 106, p. 201-203, 1986.

MIES FILHO, A. A patologia da reprodução na espécie ovina. In: MATERA, E.A.; GRUNERT, E.; MIES FILHO, A. **Preleções sobre patologia da reprodução**. Belo Horizonte: Associação dos Criadores de Gir do Brasil, 1975. p. 280-345.

MIES FILHO, A.; DUTRA, J.; GIRÃO, R.N. Congelação do sêmen ovino na primavera. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 5, n. 3/4, p. 27-57, 1982.

MONREAL, A.C.D.; LEITE, L.R.C.; BAKARJI, E.W.B. Efeito do eCG na fertilidade de ovelhas mestiças inseminadas com sêmen congelado em tempo fixo durante a transição anestro-estro. **Agrarian**, Dourados, v. 1, n. 1, p. 79–90, jul./set. 2008.

MORAES, J.C.F. Emprego do “efeito macho” na indução e manipulação do ciclo estral em ovelhas durante o anestro. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 11, p. 32-34, 1991.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONÇALVES, P.D.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. (Ed). **Biotécnicas aplicadas a reprodução animal**. São Paulo: Varela, 2002. cap. 3, p. 25-35.

NEVES, J.P.; LUZ, S.L.N. Inseminação laparoscópica em ovelhas com cio natural e induzido sincronizado antes e durante a estação reprodutiva. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 4, n. 1, p. 133-137, 1994.

OTTO, C.; ANDRIGUETTO, J.L.; SÁ, J.L.; SILVEIRA, K.B.X.; CASTRO, J.A.; WOEHL, A.H.; VALENTINI, V.M. Estudo do “efeito macho” na concentração dos partos de ovelhas e borregas expostas à monta no anestro sazonal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 163- 165.

THIMONIER, J.; COGNIE, Y.; LASSOUED, N.; KHALDI G. L'effet mâle chez les ovins: une technique actuelle de maîtrise de la reproduction. **Productions Animales**, Paris, v. 13, p. 223-231, 2000.

UNGERFELD, R.; RUBIANES, E. Short term primings with different progestagen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG estrous induction in anestrus ewes. **Small Ruminant Research**, Little Rock, v. 46, p. 63-66, 2002.

UNGERFELD, R.; FORSBERG, M.; RUBIANES, E. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. **Reproduction Fertility and Development**. Collingwood, v. 16, p. 479-490 2004.

4 USO DE PROTOCOLOS REPRODUTIVOS EM OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS, SOBRE A TAXA DETECÇÃO, TEMPO MÉDIO PARA APRESENTAÇÃO DO ESTRO, TAXA DE PRENHEZ NA IATF E ESTRO SEGUINTE A IATF

Resumo

Com a expansão da ovinocultura no Brasil, a demanda pela realização da Inseminação Artificial tem aumentado significativamente. Assim sendo, o desenvolvimento de protocolos reprodutivos visando a Inseminação Artificial em tempo fixo (IATF), tem sido cada vez mais requisitados. O objetivo deste experimento foi de avaliar protocolos de 7 e 11d de permanência do dispositivo, e a reutilização do dispositivo, sobre a taxa detecção e tempo para apresentação do estro, taxa de prenhez na IATF e no estro seguinte a IATF. Foram utilizadas 275 ovelhas da raça Santa Inês com $78 \pm 11,6$ d pós-parto, peso médio de $49,1 \pm 7,3$ kg, escore de condição corporal média $2,9 \pm 0,4$ (1-5), que receberam os seguintes tratamentos: 7N= 7d com CIDR novo; 7U= 7d com CIDR já usado por 7d; 11N= 11d com CIDR novo; 11U= 11d com CIDR já usado por 7d. O dia inserção do dispositivo foi considerado o dia 0 (D0). No dia da retirada do dispositivo (D7 ou D11) foi realizada a aplicação de 300 UI de eCG (Folligon[®], Intervert - Holanda) e 6,71 mg de Dinoprost trometamina (Lutalyse[®], Pfizer do Brasil – São Paulo). Todas as ovelhas foram submetidas a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) 49h após a retirada do CIDR, pelo método transcervical, com sêmen diluído, refrigerado e utilizado no mesmo dia, proveniente de 2 carneiros da raça Dorper e um da raça Santa Inês. Após 10d da IATF, as ovelhas foram agrupadas de acordo com o sêmen utilizado na IATF, e submetidas a monta natural por 25 dias. O delineamento experimental foi de blocos incompletos casualizados, de acordo com o número de partos, período pós-parto, tipo de parto (simples ou gemelar), peso e escore de condição corporal. Os resultados foram analisados pelo teste qui-quadrado (prenhez), e Tukey (estro). A taxa de detecção do estro não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$), e foi de 73,5, 68,5, 67,1 e 72,8% para os tratamentos 7N, 7U, 11N e 11U, respectivamente. Não houve diferença ($P>0,05$) no tempo médio para apresentação do estro, e os valores médios foram de 35:41, 34:38, 38:18 e 38:58h, para os tratamentos 7N, 7U, 11N e 11U, respectivamente. As taxas de prenhez na IATF, no estro seguinte à IATF não diferiram entre os tratamentos ($P>0,05$). Assim sendo, a taxa de prenhez na IATF foi de 28,6%, já no primeiro estro após a IATF. Na prenhez total do experimento o tratamento 11N (86,6%) foi superior ($P=0,03$) ao tratamento 7U (71,4%). Os protocolos de sincronização de 7 e 11 dias, mostraram-se eficientes em induzir a manifestação de estro. A reutilização do CIDR não influenciou na taxa de aparecimento de estro, tempo médio para o aparecimento e na taxa de prenhez na IATF.

Palavras-chave: Ovelhas; Sincronização; IATF; Estro

Abstract

With the expansion of sheep production in Brazil, the demand for implementation of artificial insemination has increased significantly. Thus, the development of reproductive protocols to fixed-time artificial insemination (FTAI), has been increasingly required. The objective of this experiment was to evaluate protocols for 7 and 11d of new and used insert device on heat detection rate and time for onset of estrus, pregnancy rate in the FTAI and in the estrus following the FTAI. Two hundred and seventy five Santa Inês ewes (49.1 ± 7.3 kg of BW, 2.9 ± 0.4 of BCS (1-5) and 78 ± 11.6 days post partum) were used and received the following treatments: 7N = 7d with new CIDR; 7U = 7d CIDR already used for 7d; 11N = 11d with new CIDR; 11U = 11d with CIDR already used by 7d. The day of device insertion was considered the day 0 (D0). On the CIDR removal (D7 or D11) the ewes received intramuscular injections of 300 IU of eCG (Folligon®, invert - Netherlands) and 6.71 mg tromethamine dinoprost (Lutalyse®, Pfizer Brazil - São Paulo). All ewes were submitted to FTAI, 49h after CIDR removal by transcervical method, with diluted and chilled semen, from two Dorper rams and one Santa Inês ram. After 10d of FTAI, ewes were exposed for 20 days with the same ram used in the FTAI. The experimental design was an incomplete randomized block and ewes were assigned according to parity (primiparous or multiparous), lambing date, type of rearing (single or twin), body weight and body condition score (1-5). Results were analyzed by chi-square test (pregnancy) and Tukey (estrus). The estrus detection rate did not differ ($P > 0.05$) among treatments and were 73.5, 68.5, 67.1 and 72.8% for treatments 7N, 7U, 11U and 11N, respectively. There was no difference ($P > 0.05$) in the mean time for onset of estrus, and the averages were 35:41, 34:38, 38:18 and 38:58h for the treatments 7N, 7U, 11U and 11N respectively. Pregnancy rate in the FTAI and estrus following the FTAI did not differ among treatments ($P > 0.05$) and the averages were 28.6% and 51%, respectively. Total pregnancy rate in treatment 11N was higher (86.6%, $P = 0.03$) as compared with treatment 7U (71.4%). The protocols for estrus synchronization of 7 and 11d were effective in inducing the expression of estrus. The reuse of CIDR did not influence the rate of onset and average time to onset of estrus and pregnancy rate in the FTAI.

Keywords: Ewes; Estrus synchronization; FTAI; Estrus

4.1 Introdução

A ovinocultura está apresentando um ciclo de crescimento mundial. Este crescimento intensificou-se nos últimos anos principalmente em países em desenvolvimento, detentores dos maiores rebanhos. O efetivo brasileiro de ovinos é de 16.239.455 milhões de cabeças (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E

ESTATÍSTICA - IBGE, 2007), acompanhando a tendência mundial, projeta-se uma multiplicação expressiva do rebanho brasileiro nos próximos anos. Para o acompanhamento desta perspectiva, vê-se a necessidade de estudar e assistir, a reprodução destes animais, para que possa ser possível um aumento da eficiência reprodutiva e/ou produtiva, através da utilização eficiente de animais com genótipos superiores.

Os manejos nutricional, genético e sanitário, devem estar intimamente associados ao desenvolvimento reprodutivo, sendo diretamente relacionados com o sucesso ou fracasso da exploração comercial, exercendo um importante papel no incremento da produtividade. A inseminação artificial (IA) na ovinocultura é uma biotécnica, que propicia uma grande variação de resultados, devido a ovelha possuir particularidades na exibição do estro e na anatomia do conduto cervical, por esses motivos, apesar da IA ser a técnica que apresenta grande impacto em programas de melhoramento genético, ela não está difundida no mundo como a IA em bovinos.

Com o desenvolvimento dos protocolos de sincronização de estro, foi possível a realização da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Desta forma, o estudo de protocolos e a reutilização de dispositivos de progestágeno possuem papel importante para programas de inseminação artificial, pois podemos realizar um melhor aproveitamento de machos de valor zootécnico superior, concentração de partos, homogeneidade e qualidade de animais destinados à comercialização e menor custo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de protocolos de 7 e 11 dias, a reutilização do CIDR, sob a taxa de detecção do estro, tempo médio para apresentação do estro, e a taxa de prenhez na IATF e primeiro estro após a IATF com monta natural. A hipótese do trabalho é: O tempo de permanência do dispositivo, não influencia a taxa de prenhez na IATF, no primeiro ciclo estral após a IATF e no final da estação de monta, em ovelhas da raça Santa Inês.

A reutilização dos dispositivos já utilizados por 7 dias possui efeito semelhante aos dispositivos novos.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Localização e Período Experimental

O experimento foi realizado na Fazenda Pinhalzinho de propriedade do engenheiro agrônomo Arnaldo Lima e outros, situada no município de Araras – SP. O clima da região é considerado tropical quente com chuvas concentradas no verão e inverno seco, sendo que a propriedade está localizada em latitude 22° 21'S e longitude 47° 23'W. O período experimental foi entre os meses de fevereiro e março/2007.

4.2.2 Animais e Alimentação

Foram utilizadas 275 ovelhas da raça Santa Inês, com 78 ±11,6d pós-parto, peso médio de 49,1 ±7,3 Kg , e escore de condição corporal médio 2,9 ±0,4 (1-5). As ovelhas ficaram em confinamento recebendo ração completa à base de silagem de milho e concentrado, balanceada de acordo com o SRNS (Small ruminant nutrition system), alocadas em galpões com piso cimentado, bebedouro e mistura mineral *ad libitum*.

A desmama ocorreu 15 dias antes da realização do experimento.

4.2.3 Tratamentos

As ovelhas foram divididas em 4 grupos, e submetidas à protocolos de sincronização de 7 e 11 dias.

7N = recebeu CIDR novo, por 7 dias (n=68).

7U = recebeu CIDR usado, por 7 dias (n=70).

11N = recebeu CIDR novo, por 11 dias (n=67).

11U = recebeu CIDR usado, por 11 dias (n=70)

O delineamento experimental utilizado foi de blocos incompletos ao acaso. As ovelhas foram blocadas de acordo com o número de partos, período pós-parto, tipo de parto (simples ou gemelar), peso e escore de condição corporal.

4.2.4 Sincronização do Estro

As ovelhas foram sincronizadas com dispositivo vaginal de progesterona CIDR[®] (Eazi-Breed, Pfizer – Nova Zelândia), sendo o dia de inserção do dispositivo considerado como dia zero (D0). Os protocolos de sincronização utilizados foram de 7 e 11d de permanência do dispositivo (Figura 3), os quais consistiram na colocação do CIDR (D0) e retirados sete ou onze dias após (D7 ou D11), com aplicação intramuscular de 300 UI de eCG (Folligon[®] Intervet - Holanda) e 6,71 mg de Dinoprost trometamina (Lutalyse[®] Pfizer do Brasil - SP). Após a retirada do dispositivo as ovelhas de todos os grupos receberam rufiões para auxiliarem na observação visual do estro, que foi ininterrupta por 60 horas.

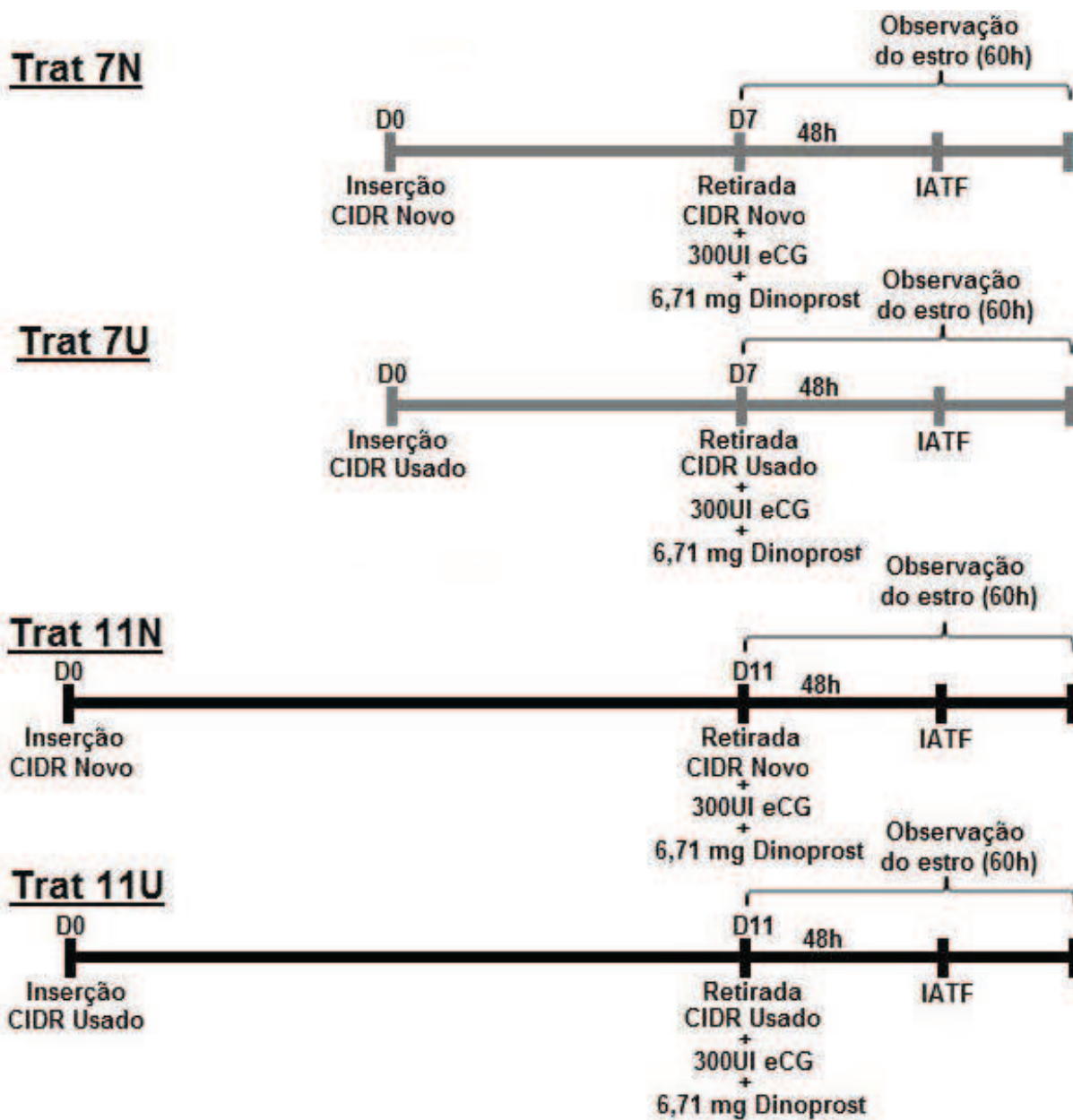


Figura 3 - Protocolo de 7 e 11d de permanência do dispositivo. Onde o CIDR[®], é inserido na vagina da ovelha no D0, ele permanece no interior da vagina até o D7/D11, quando é retirado. Concomitantemente à retirada, é realizada a aplicação por via intramuscular de 300 UI eCG (1,5 ml de Folligon[®]) e 6,71 mg de dinoprost trometamina (1,0 ml de Lutalyse[®]), sendo iniciada a observação de estro por 60h. A IA ocorre 48h após a retirada do dispositivo

O sêmen utilizado nas inseminações foi obtido através da colheita com o auxílio de uma vagina artificial, de três carneiros selecionados no rebanho da propriedade, e utilizou-se 2 machos da raça Dorper e 1 macho da raça Santa Inês. Os reprodutores foram submetidos à avaliação da qualidade espermática através de um exame andrológico onde deveriam apresentar as seguintes condições mínimas: turbilhonamento 3 (1-5), motilidade progressiva 70% (0 – 100%), vigor 3 (1- 5), 80% de espermatozóides normais e concentração espermática de 2,5 milhões/mm³. Após a avaliação do sêmen, foi acrescido a ele o diluente gema/água de coco (MIES FILHO; DUTRA; GIRÃO, 1982) até a concentração de 3×10^8 , resfriado e posteriormente envasado em palhetas de 0,25 mL, para realização da inseminação artificial no mesmo dia. A cada hora o sêmen foi submetido a uma avaliação, para verificação das condições mínimas citadas acima, sendo que não foi observada necessidade de novas colheitas. Cada tratamento foi subdividido em 3 lotes e procedeu-se um escalonamento da sincronização e IATF totalizando 3 dias, de maneira que em cada dia de inseminação enseminou-se um lote de cada tratamento. Houve ainda uma distribuição aleatória dos 3 carneiros utilizados dentro de cada lote.

4.2.5 Inseminação Artificial

Cada tratamento foi subdividido em 3 grupos, para permitir o número adequado de animais a serem sincronizados e inseminados no mesmo dia. Todas as ovelhas foram inseminadas pelo mesmo inseminador. A IATF foi realizada em média $49 \pm 0,5$ horas, após a retirada do CIDR[®] à sombra. Para realização da inseminação foi construído dois cavaletes, com a superfície superior côncava. Os animais no momento da inseminação foram colocados em decúbito ventral sobre a superfície do cavalete, contidos com auxílio de dois ajudantes, permanecendo em uma inclinação de 45°. A inseminação iniciou-se com a assepsia da vulva do animal e introdução do espéculo contendo iluminação própria, para facilitar a visualização do óstio cervical. A introdução do aplicador quando possível se deu até o início do corpo do útero, quando então se

depositou o sêmen realizando assim a inseminação. Quando a introdução do aplicador não foi completa, o sêmen foi depositado no canal cervical.

4.2.6 Repasse com Carneiros

Após a realização da IATF, as ovelhas foram reagrupadas de acordo com a procedência do sêmen, formando 3 grupos, após dez dias da IATF, cada grupo recebeu o seu respectivo macho utilizado na inseminação, para serem submetidas a monta natural na eventual repetição de cio. Os carneiros permaneceram junto com as ovelhas por 21 dias.

4.2.7 Diagnóstico de Prenhez

O diagnóstico de prenhez foi realizado, com o auxílio de um aparelho de ultrasonografia (Honda - HS-1500 – Echo – São Paulo), com a utilização de uma probe linear (5,5 – 7,5 Mhz) por via retal e trans-abdominal. A ultrasonografia foi realizada aos 55 dias após a IATF, para determinação da idade da gestação (IATF = 55d e primeiro cio após IATF= 38d).

4.2.8 Análise Estatística

Os dados referentes a taxa de prenhez IATF/repasse foram analisados através do procedimento GENMOD do programa estatístico SAS (1999) e realizou-se o teste de Qui-quadrado à 5%. Já os dados referentes a distribuição e aparecimento de estro foram analisados pelo procedimento GLM do mesmo programa, sendo realizado o teste de Tukey. Foi admitido um nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

4.3 Resultados e Discussão

A taxa de detecção de estro não diferiu ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 2), obteve-se média de 70,4% (Figura 4).

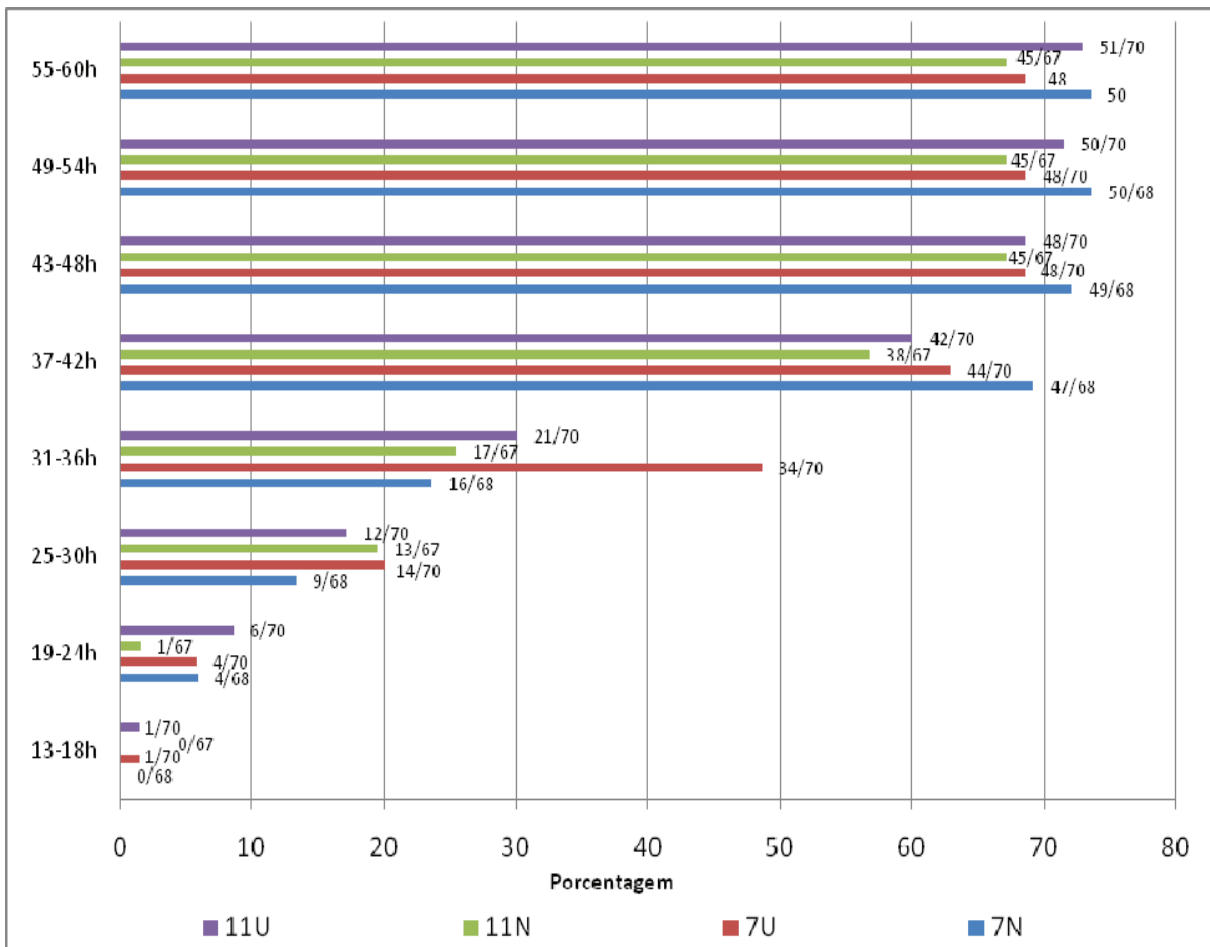
Os resultados estão de acordo, com os encontrados por Dias et al. (2001) onde ovelhas que receberam esponjas vaginais impregnadas com Fluorogestona por 12d e 200 UI de eCG, apresentaram 76,7% de detecção de estro. Quanto a reutilização do CIDR, Brandão et al. (2007) trabalharam com CIDR por 5d e não observaram diferença na taxa de detecção de estro, sendo de 77,7% e 80% para o CIDR novo e usado, respectivamente. Por outro lado, Ungerfeld e Rubianes (1999), trabalharam com CIDR usado por 6 e 11d de permanência associado com 350 UI de eCG, e encontraram taxas de detecção de estro 93,6 e 88,9%, respectivamente. Os autores concluíram que a utilização do CIDR por 6d, apresentou resultados semelhantes quando comparado com 11 dias.

Tabela 2 - Porcentagem de aparecimento de estro e tempo médio para apresentação após a retirada do dispositivo vaginal

	Tratamentos ¹			
	7N	7U	11N	11U
Taxa Estro ²	50/68 (73,5)	48/70 (68,5)	45/67 (67,1)	51/70 (72,8)
Tempo Médio Estro ³ (h)	35:51 ± 6:15	34:38 ± 6:28	38:18 ± 6:24	38:58 ± 9:02
Tempo Médio IATF ⁴ (h)	49:22 ± 0:37	49:44 ± 1:39	49:20 ± 0:56	49:23 ± 0:50

¹Tratamentos: 7N= CIDR novo por 7 dias; 7U= CIDR usado por 7 dias; 11N= CIDR novo por 11 dias; 11U= CIDR usado por 11 dias. ²Taxa de detecção do estro. ³Tempo médio para aparecimento do estro após a retirada do CIDR. Valores entre parênteses são apresentados em porcentagem.

O tempo médio para detecção de estro não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$), e a média foi 37 horas após a retirada do CIDR. Os valores encontrados foram semelhantes aos relatados por Godfrey; Gray; Collins (1995), que avaliaram o uso de CIDR por 12d e da PGF no protocolo de ovsynch em ovelhas, e observaram que as fêmeas tratadas com CIDR apresentaram o estro em 33:36 ± 9:36 horas após a retirada. Da mesma forma, Brozos et al. (1999), estudaram a sincronização de ovelhas com esponjas impregnadas com MAP por 14d e 400 UI de PMSG, e observaram o tempo médio para apresentação do estro de 34:00h após a retirada das esponjas. Tempo semelhante a este também foi encontrado por Ungerfeld e Rubianes (1999), que trabalharam com a reutilização do CIDR por 6 e 11d, encontraram média de 34 e 39 horas para detecção do estro após a retirada do CIDR.



Tratamentos: 7N= CIDR novo por 7 dias; 7U= CIDR usado por 7 dias; 11N= CIDR novo por 11 dias; 11U= CIDR usado por 11 dias

Figura 4 - Dados acumulados da detecção de estro ao longo do tempo a partir da retirada do CIDR, de acordo com os tratamentos: 7N= CIDR novo por 7d; 7U= CIDR usado por 7d; 11N= CIDR novo por 11d; 11U= CIDR usado por 11d.

A taxa de prenhez não diferiu entre os tratamentos ($P < 0,05$), e a média foi 28,6% de prenhez (Tabela 3). Valores semelhantes foram obtidos por Pinna et al. (2008), testaram a reutilização do CIDR por até 3 vezes em um protocolo de 5d associado com 300 UI eCG, obtiveram taxa de prenhez média de 25,5% em ovelhas submetidas a IATF por laparoscopia 50 horas após a retirada do CIDR. Os autores não observaram diferença na reutilização do CIDR por mais de uma vez. Com o objetivo de estudar a

concentração de progesterona (P4) durante a sincronização de estro em cabras, com CIDR já utilizado por 9d, Guido et al. (2007) obtiveram concentrações de P4 que variaram de 1,8 a 7,7 ng/mL para o CIDR novo e 1,5 a 5,8 ng/mL para o CIDR já utilizado por 9d, não havendo diferença entre os tratamentos.

Tabela 3 - Taxas de prenhez na IATF, no primeiro ciclo estral após a IATF e prenhez total

	Tratamentos ¹			
	7N	7U	11N	11U
Taxa de prenhez IATF ²	19/68 (27,9)	15/70 (21,4)	23/67 (34,3)	22/70 (31,4)
Taxa de prenhez 1° estro ³	34/49 (69,3)	35/55 (63,6)	35/44 (79,5)	37/48 (77,08)
Total ⁴	53/68 (77,9) ^{ab}	50/70 (71,4) ^b	58/67 (86,6) ^a	59/70 (84,3) ^{ab}

¹Tratamentos: 7N= CIDR novo por 7d; 7U= CIDR usado por 7d; 11N= CIDR novo por 11d; 11U= CIDR usado por 11d. ²Taxa de prenhez na IATF. ³Taxa de prenhez no primeiro estro após a retirada do CIDR. ⁴Taxa de prenhez total obtida na IATF e no primeiro estro após a IATF. Valores entre parênteses são apresentados em porcentagem. Letras diferentes na mesma linha diferem entre si no teste do qui-quadrado (P>0,05)

Um dos principais fatores limitantes da IA transcervical é a baixa taxa de penetração do aplicador no canal cervical. Naqvi et al. (1998), avaliaram a IA transcervical no estro natural de ovelhas, e obtiveram baixas taxas de penetração do aplicador 38,5 e 46,1% para média e profunda, que refletiram em taxas de prenhez de 28,5 e 27,2% para Inseminações com penetração média e profunda, respectivamente. Da mesma forma, Windsor (1995) obteve 21,1% de taxa de penetração do aplicador em ovelhas com 3 anos de idade. A taxa de prenhez do presente experimento, também foi semelhante ao encontrado por Rabassa et al. (2007), que encontraram taxa de prenhez de 25%, quando a inseminação cervical foi superficial.

Uma solução para a baixa taxa de prenhez pelo método transcervical, é a realização da inseminação pelo método de laparoscopia, ou pelo método transcervical tracionado, este último método permite a manipulação da cérvix e introdução do aplicador, realizando assim a deposição do sêmen no corpo uterino. Utilizando-se a técnica de IA transcervical tracionada, são encontradas taxas que variam de 45% (SOUZA et al., 1994) à 81% (MONREAL et al., 2008), esta variação está relacionada

com o protocolo de sincronização utilizado e o tempo para a IATF após a retirada do CIDR.

A taxa de prenhez no estro seguinte a IATF, também não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$), e a média foi de 71,9% (Figura 6). O resultado do presente experimento foi superior ao encontrado por Martínez-Tinajero et al. (2006) que trabalharam com ovelhas F1 (Damara x Merino), e obtiveram taxa de prenhez de 53,3%, no primeiro estro após a IATF.

A taxa de prenhez total foi 15,2% superior ($P=0,03$) para o tratamento 11N com relação ao tratamento 7U. Apesar de não ter havido diferença na taxa de prenhez na IATF, a quantidade de ovelhas vazias aptas ao repasse, no primeiro ciclo estral após a IATF foi de 55 ovelhas para 7U e 44 ovelhas para 11N, representando 20% a mais de ovelhas para o grupo 7U. Como período de monta natural foi de apenas 20 dias, a monta natural ocorreu apenas no primeiro estro após a IATF. A maior parte das ovelhas rerepresentou o estro sincronizado, em virtude da sincronização do estro anterior. Esta grande quantidade de animais em estro pode ter acarretado uma sobrecarga do macho, contribuído para aumentar a quantidade de espermatozóides imaturos no sêmen ejaculado, e conseqüentemente levando a diminuição da fertilidade. Além disso, devido ao grande número de animais em estro ao mesmo tempo, pode ter havido a preferência do macho em cobrir algumas ovelhas e deixando outras sem serem cobertas no momento adequado. A taxa de prenhez total foi inferior ao normalmente encontrada em programas que utilizam a monta natural. Valores superiores foram observados por Pereira et al. (1998), que obtiveram 90% de taxa de prenhez em ovelhas da raça Santa Inês, submetidas à monta natural no nordeste brasileiro.

No presente experimento apesar de não ter sido quantificado a taxa de penetração no canal cervical, a inseminação artificial transcervical provavelmente pode ter contribuído para a baixa taxa de prenhez na IATF. Conseqüentemente contribuindo para aumentar o número de animais passíveis de rerepresentar estro.

Apesar da taxa de prenhez total ter sido inferior a encontra por Pereira et al. (1998), onde a estação de monta foi realizada por um período de 45 a 60 dias com a proporção de 1 macho para 40 ovelhas, o resultado obtido neste experimento foi realizado com o uso de 3 carneiros, ou seja, utilizando a proporção macho : fêmeas de

1:92, realizando assim uma melhor eficiência na utilização dos carneiros da propriedade.

4.4 Conclusões

O tempo de permanência do CIDR, não influenciou na taxa de detecção e no tempo médio para o aparecimento do estro, na taxa de prenhez na IATF e no repasse com monta natural.

A reutilização do CIDR, já utilizado por 7 dias, apresenta resultados semelhantes ao CIDR novo.

Referências

- BRANDÃO, F.Z.; CAVALCANTI, A.S.; PINA, A.E.; VIANNA, J.H.M.; BORGES, A.M.; SILVA, A.L.S.; NOGUEIRA, L.A.G.; FONSECA, J.F. Efeito da reutilização de dispositivos de progesterona sobre o momento e número de ovulações em ovelhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 17., 2007, Curitiba. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 2007.
- BROZOS, C.N.; SARATSI, P.H.; BOSCO, C.; KYRIAKIS, S.C.; ALEXOPOULOS, C. Effect of bovine somatotropin (bST) administration on reproduction, progesterone concentration during lactation and LH secretion during estrus, in dairy ewes. **Animal Reproduction Science**, Newcastle, v. 56, p. 177-187, 1999.
- DIAS, F.E.F.; LOPES JUNIOR, E.S.; VILLAROEL, A.B.S., RONDINA, D.; LIMA-VERDE, J.B.; PAULA, N.R.O.; FREITAS, V.J.F. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica eqüina. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 5, p. 618-626, out. 2001.
- GODFREY, R.W.; GRAY, L.; COLLINS, J.R. Estrus synchronization of sheep in the tropics using either controlled internal drug release (CIDR) dispensers or prostaglandin F2a (PGF). **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 73, p. 232, 1995.
- GUIDO, S.I.; GUIDO, F.C.L.; NASCIMENTO FILHO, E.V.; ROCHA, J.D.; FREITAS NETO, L.M.; AGUIAR FILHO, C.R.; MACHADO, P.P.; CHAVES, R.M. Avaliação da concentração de P4 utilizando CIDR novo e reutilizado em protocolos de sincronização do estro e da ovulação em cabras. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 1, n.2, p. 66-68, jul./dez. 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Pecuária, banco de dados agregados, efetivo de rebanhos**. 2007. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp>>. Data de acesso: 23 abr. 2009.

MONREAL, A.C.D.; LEITE, L.R.C.; BAKARJI, E.W.B. Efeito do eCG na fertilidade de ovelhas mestiças inseminadas com sêmen congelado em tempo fixo durante a transição anestro-estro. **Agrarian**, Dourados, v. 1, n. 1, p. 79–90, jul./set. 2008.

MIES FILHO, A.; DUTRA, J.; GIRÃO, R.N. Congelamento do sêmen ovino na primavera. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 5, n. 3/4, p. 27-57, 1982.

NAQVI, S.M.K.; JOSHI, A.; BAG, S.; PAREEK, S.R.; MITTAL, J.P. Cervical penetration and transcervical AI of tropical sheep (Malpura) at natural oestrus using frozen-thawed semen. **Small Ruminant Research**, Little Rock, v. 29, p. 329-333, 1998.

PEREIRA, R.G.A.; MAGALHÃES, J.A.; COSTA, N.A.; TOWNSEND, C.R.; SILVA NETO, F.G. da. Ovinos deslanados: Alternativa para a agricultura familiar. Resultados e discussão. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** São Paulo: Gmosis, 1998. 1 CD-ROM.

PINNA, A.E.; BRANDÃO, F.Z.; CAVALCANTI, A.S.; BORGES, A.M.; LOUREIRO, A.P.P.; FONSECA, J.F. Fertilidade de ovelhas cíclicas submetidas à sincronização do estro utilizando implantes intravaginais (CIDR[®]) novos e reutilizados. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 36, p. 581, 2008.

SOUZA, M.I.L.; LUZ, S.L.N.; GONÇALVES, P.B.D.; NEVES, J.P. Inseminação transcervical com sêmen congelado em ovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 24, n. 3, p. 597–602, 1994.

UNGERFELD, E.; RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 68, p. 349-353, 1999.

WINDSOR, D.P.; SZELL, A.Z.; BUSCHBCK, C.; EDWARD, A.Y.; MILTON, J.T.B.; BUCKRELL, B.C. Transcervical artificial insemination of Australian Merino ewes with frozen semen. **Theriogenology**, Montgomery, v. 42, p. 147-157, 1994.

5 MANIPULAÇÃO FARMACOLÓGICA DO CICLO ESTRAL SOBRE DIFERENTES HORÁRIOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL POR LAPAROSCOPIA

Resumo

Dentre as diversas biotecnologias de reprodução animal que podem impulsionar e agilizar o melhoramento genético dos rebanhos, é fato conhecido que a inseminação artificial é a técnica de menor custo e de maior utilização no mercado. Na maioria das vezes a inseminação artificial está associada a um protocolo de sincronização do estro, podendo assim ser realizada a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). O objetivo deste experimento foi de avaliar a eficiência da IATF por laparoscopia em ovelhas da raça Santa Inês submetidas a protocolos de sincronização do estro. Foram utilizadas 247 ovelhas da raça Santa Inês com peso médio de $53,4 \pm 6,9$ kg e escore de condição corporal médio de $3,1 \pm 0,7$ (1-5). As ovelhas foram separadas em 4 grupos e receberam os seguintes tratamentos: MN (controle) foi realizada a sincronização do estro, e as ovelhas submetidas a monta natural com carneiros; IATF = as ovelhas foram submetidas a IATF por laparoscopia 48h após a retirada do CIDR; IATF+GnRH= as ovelhas foram submetidas a IATF por laparoscopia + 0,05 mg de Gonadorelina, quando 50% das ovelhas apresentaram sinais de estro; IA= as ovelhas foram inseminadas por laparoscopia no sistema AM/PM, 12h após o início dos sinais de estro. Todos os tratamentos foram submetidos ao mesmo protocolo, CIDR por 11d, aplicação de 300UI de eCG e 6,31 mg de Dinoprost trometamina ($PGF_{2\alpha}$), no dia da retirada do CIDR. Utilizou-se sêmen fresco, diluído e proveniente de carneiros da raça Dorper. Após 10d do término da IATF, todas as ovelhas tiveram acesso a machos da raça Santa Inês por 25d. O delineamento experimental foi de blocos incompletos casualizados. Os resultados foram analisados pelo teste qui-quadrado (prenhez), e Tukey (estro). A taxa de detecção de estro foi de 85,5, 72,7, 84,85 e 88,4% para MN, IATF, IATF+GnRH e IA, respectivamente. A detecção de estro no tratamento IATF foi menor ($P < 0,05$) que o tratamento IA. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos no tempo médio para apresentação do estro e os valores foram de 35:03, 32:37, 30:04 e 31:54h, para MN, IATF, IATF+GnRH e IA, respectivamente. A taxa de prenhez no tratamento MN foi maior ($P < 0,05$), quando comparado aos tratamentos IATF, IATF+GnRH. Os valores foram de 66,1, 43,8, 45,0 e 54,7% para MN, IATF, IATF+GnRH e IA, respectivamente. O protocolo de sincronização de estro com duração de 11 dias mostrou-se eficaz na sincronização de estro das ovelhas. A taxa de prenhez média nos tratamentos com IA por laparoscopia foi 27,7% menor quando comparada com a monta natural.

Palavras-chave: Ovelhas; Sincronização; CIDR; GnRH; Laparoscopia

Abstract

Artificial insemination (AI) is a technique that can boost and speed up genetic improvement of herds. This approach can be associated with a protocol for estrus synchronization to allow the use of fixed-time artificial insemination (FTAI). The objective of this experiment was to determine the efficiency of FTAI by laparoscopy in Santa Inês ewes submitted to protocols of estrus synchronization. Two hundred and forty seven Santa Inês ewes (53.4 ± 6.9 kg BW and 3.1 ± 0.7 BCS) were divided into 4 groups and received one of the following treatments: MN = ewes were synchronized and exposed to males during 20d; IATF = ewes were synchronized and inseminated by laparoscopy 48h after CIDR withdrawal; IATF+GnRH = ewes were synchronized and inseminated by laparoscopy using 0.05 mg gonadorelin, when 50% of the ewes showed signs of estrus; IA = ewes were synchronized and inseminated by laparoscopy, 12h after the onset of signs of estrus. All treatments were subjected to the same protocol: CIDR for 11 days, intramuscular injection of 300UI of eCG plus 6.31 mg tromethamine dinoprost at CIDR withdrawal. It was used fresh diluted semen from Dorper rams. After 10d of the end of the TFAI, all ewes were exposed to Santa Inês rams for 25d. The experimental design was an incomplete randomized block. The results were analyzed by chi-square test (pregnancy) and Tukey (estrus). The estrus detection rate was 85.5, 72.7, 84.85 and 88.4% for MN, IATF, IATF+GnRH and IA, respectively. The estrus detection in the treatment IATF was lower ($P < 0.05$) than the IA treatment. There was no difference ($P > 0.05$) among treatments in mean time to onset of estrus and the values were 35:03, 32:37, 30:04 and 31:54 h, for MN, IATF, IATF+GnRH and IA, respectively. The pregnancy rate was higher ($P < 0.05$) in the MN treatment (66.1%) when compared to treatments IATF (43.8%), IATF + GnRH (45%) and AI (54.7%). The protocol using CIDR for 11 days was effective for estrus synchronization in ewes. The average pregnancy rate in treatments with AI by laparoscopy was 27.7% lower compared to natural breeding.

Keywords: Ewes; Synchronization; CIDR, GnRH; Laparoscopy

5.1 Introdução

O desempenho reprodutivo do rebanho está associado com os outros componentes responsáveis pelo sucesso ou fracasso da exploração, exercendo assim um papel importante no incremento da produtividade.

Por volta da década de 60, começaram a ser utilizadas técnicas de sincronização de estro. Durante os últimos 30 anos tem sido despertado o interesse do desenvolvimento de novos métodos para sincronizar o estro de ovelhas, sendo utilizados como ferramentas para o gerenciamento de criações e servindo de modelo para estudos das características endócrinas na espécie ovina (DELIGIANNIS et al., 2005). Estas técnicas vêm sendo implementadas com a introdução de novos hormônios, protocolos e descoberta de características peculiares da sazonalidade reprodutiva das raças ovinas. A sincronização do estro é uma ferramenta fundamental que veio para auxiliar ainda mais na gestão da propriedade moderna e tecnificada, pois possui várias características positivas, tais como: redução da mão de obra para detecção do estro, concentração das parições, cuidados com os recém nascidos, formação de lotes homogêneos para o abate, entre outras.

A utilização de biotécnicas reprodutivas como a Inseminação Artificial (IA) permite potencializar o uso de reprodutores geneticamente superiores aos demais, elevar a relação macho: fêmea e tornar possível a difusão de características desejáveis dos reprodutores de forma rápida e massiva, além de possuir papel fundamental no controle de enfermidades de transmissão sexual. (PARAGUEZ et al. , 2000; apud CRUZ JÚNIOR, 2006).

Atualmente existem vários métodos de inseminação artificial, porém podemos considerar a IA transcervical e a IA laparoscópica como as mais utilizadas em propriedades no Brasil. O método transcervical, é o mais utilizado para inseminar rebanhos comerciais, por se tratar de um procedimento de menor complexidade quando comparado com a laparoscopia. Porém, os resultados são variam de 20 a 70% na taxas de prenhez. Podemos atribuir estes resultados a dificuldade em se transpor o canal cervical, dificultando assim a deposição do sêmen no corpo do útero. Segundo Husein et al. (1998) a dificuldade da transposição da cérvix pode ser associada a fatores tais como: anatomia do canal cervical, estágio reprodutivo, experiência do inseminador

entre outros. Ao transpor a cérvix, existe a possibilidade de gerar lesões na mucosa cervical (CAMPBELL et al., 1996).

Com a inseminação laparoscópica evitasse os problemas encontrados na IA transcervical, principalmente porque a deposição do sêmen ocorre nos cornos uterinos, sendo a técnica mais indicada quando utilizado sêmen congelado (GHALSASI; NIMBKAR, 1996). Apesar de fácil, esta técnica no âmbito da propriedade rural possui limitações, por se tratar de um procedimento cirúrgico e exigir a utilização de equipamentos de alto custo e mão-de-obra especializada (EVANS; MAXWELL, 1987 apud RABASSA et al., 2007). O presente experimento teve objetivo de avaliar a influência do horário da inseminação sobre a taxa de prenhez, em ovelhas sincronizadas com dispositivo de progesterona permanecendo por 11 dias.

As hipóteses são as seguintes:

A IA realizada 12 horas após o aparecimento do estro, propicia resultados superiores a IATF.

A aplicação de 0,05 mg de gonadorelina no momento da IATF propicia incremento na taxa de prenhez na IATF.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Localização e Período Experimental

O experimento foi conduzido no Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), localizada na cidade de Piracicaba – SP. O clima da região é considerado tropical quente com chuvas concentradas no verão e inverno seco, sendo que a universidade está localizada em latitude 22°25’S e longitude 47°22’W com altitude de 554 metros. O experimento foi realizado em Maio/2008.

5.2.2 Animais e Alimentação

Foram utilizadas 276 ovelhas da raça Santa Inês com peso médio de 53,4 (\pm 6,92) kg e escore de condição corporal médio de 3,1 \pm 0,72 (1-5). As ovelhas foram alimentadas com uma ração completa contendo 30% de bagaço de cana *in natura* e 70% concentrado, balanceada de acordo com o SRNS (Small ruminant nutrition system), alocadas em baias com piso cimentado, bebedouro e mistura mineral *ad libitum*. As ovelhas entraram no experimento 30 dias após suas crias terem sido desmamadas.

5.2.3 Tratamentos

As ovelhas foram divididas em 4 grupos e submetidas a um protocolo de sincronização de 11 dias (Figura 5):

MN = Monta natural (n = 69).

IATF = IATF laparoscópica em 48 horas após a retirada do CIDR (n = 72).

IATF+GnRH = IATF laparoscópica associado com GnRH no ato da IA, quando 50% das ovelhas apresentaram o estro (n = 66).

IA = IATF laparoscópica 12 após o início do estro. (n = 69)

O delineamento experimental utilizado foi de blocos incompletos ao acaso. As ovelhas foram blocadas de acordo com o número de partos, período pós-parto, tipo de parto (simples ou gemelar), escore de condição e peso corporal.

5.2.4 Sincronização do Estro

As ovelhas foram sincronizadas com dispositivo vaginal de progesterona (CIDR[®] Eazi-Breed, Pfizer, Nova Zelândia), sendo o dia de inserção do dispositivo considerado como dia zero (D0). O protocolo de sincronização utilizado foi de 11d de permanência do dispositivo, o qual consiste na colocação do CIDR (D0) e retirado onze dias após (D11), com aplicação intramuscular de 300 UI de eCG (Folligon[®] Intervet - Holanda) e 6,71 mg de Dinoprost trometamina (Lutalyse[®], Pfizer do Brasil, São Paulo), como pode ser observado na Figura 5. Após a retirada do dispositivo as ovelhas de todos os

grupos, exceto o grupo MN, receberam rufiões para auxiliarem na observação visual do estro, que foi ininterrupta 77 horas após a retirada do CIDR.

As ovelhas do tratamento MN após a retirada do CIDR foram submetidas à monta natural, com o objetivo de fazer uma comparação entre a IATF laparoscópica e a monta natural. Colocou-se um carneiro para cada 17 ovelhas. As coberturas realizadas pelos carneiros foram observadas e anotadas, para determinar a taxa de detecção, a distribuição ao longo do tempo e o tempo médio para apresentação do estro. Após o período de 77 horas os carneiros foram removidos do lote.

Os demais tratamentos (IATF, IATF+GnRH e IA) foram submetidos a visualização do estro com a presença de carneiros vasectomizados (rufiões), quando a ovelha apresentaram sinais de estro, o mesmo foi observado e anotado, e o horário foi anotado, para determinar a taxa de detecção, a distribuição ao longo do tempo e o tempo médio para apresentação do estro.

No tratamento IATF as ovelhas foram submetido à IATF em 48 horas após a retirada do CIDR. No tratamento IATF+GnRH, a IATF quando 50% das ovelhas apresentaram cio. Além disso, momento da IATF realizou-se a aplicação de 0,05 mg de Gonadorelina (0,5 mL de Fertagyl[®] - Intervet - Holanda). No tratamento IA as ovelhas foram submetidas à inseminação artificial, 12h após a detecção do estro, respeitando o sistema AM/PM, semelhante ao utilizado em processos de inseminação artificial em bovinos. Ou seja, quando a ovelha apresentou estro no período matutino procedeu-se a IA no período vespertino do mesmo dia. Quando a detecção do estro ocorreu no período vespertino, procedeu-se a IA na manhã do dia seguinte. Quando restaram apenas 7 ovelhas que ainda não haviam apresentado estro, estas foram submetidas a inseminação, do lote, todas foram levadas a inseminação mesmo sem a apresentação do cio.

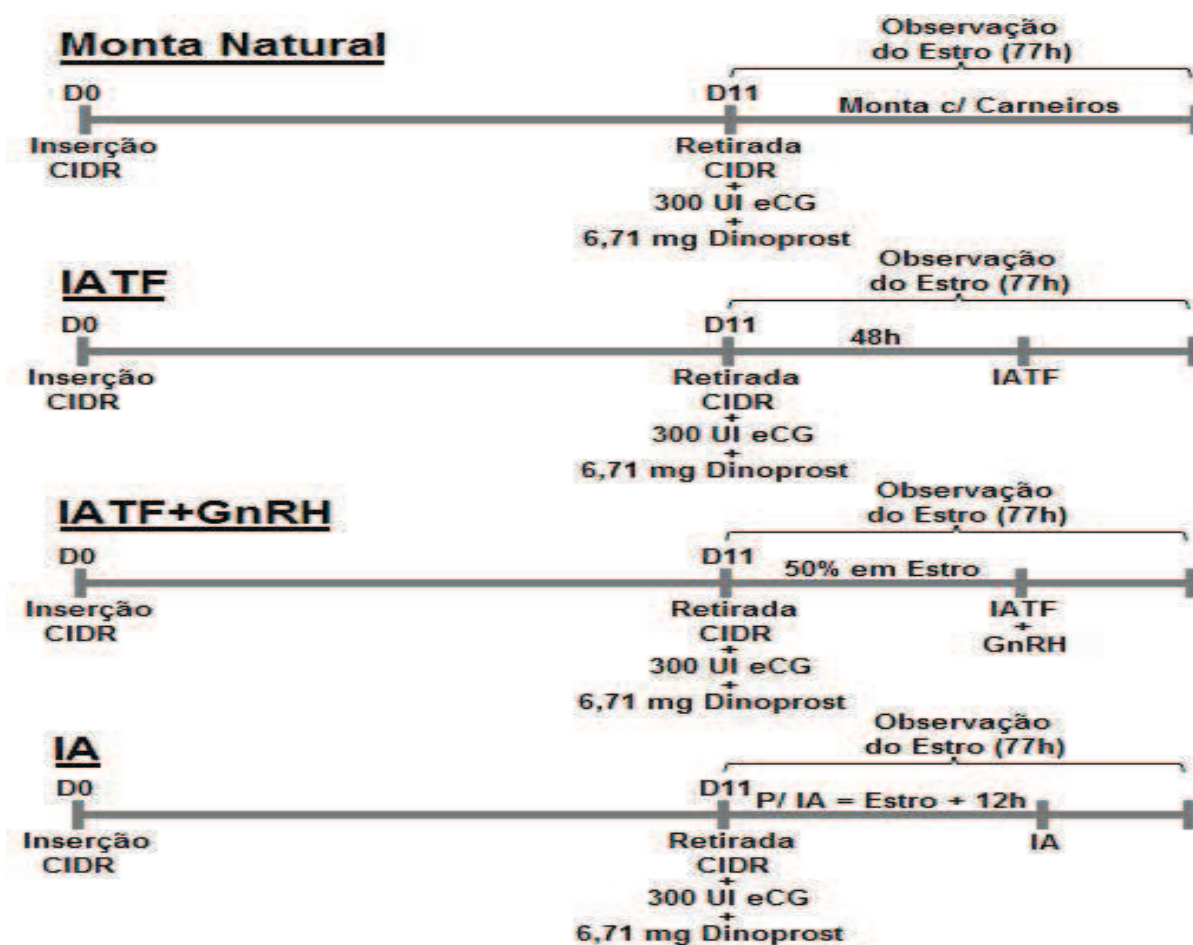


Figura 5 - Protocolo 11d de permanência do dispositivo. Onde o CIDR[®], é inserido na vagina da ovelha no D0, ele permanece no interior da vagina até o D11, quando é retirado. Concomitantemente à retirada, é realizada a aplicação por via intramuscular de 300 UI eCG (1,5 ml de Folligon[®]) e 6,71 mg de dinoprost trometamina (1,0 ml de Lutalyse[®]), sendo iniciada a observação de estro por 77h.

O sêmen utilizado nas inseminações foi obtido de 4 carneiros da raça Dorper os quais foram distribuídos igualmente entre os tratamentos. Os reprodutores foram submetidos à avaliação da qualidade espermática através de um exame andrológico onde deveriam apresentar as seguintes condições mínimas turbilhonamento 3 (1 -5), motilidade progressiva 70% (0 – 100%), vigor 3 (1- 5), 80% de espermatozoides normais e concentração espermática de 2,5 milhões/mm³.

Para diluição do sêmen utilizou-se o Dmpbs Flush[®] (Nutricell – Campinas, SP), que é uma solução fosfatada salina utilizada em transferência de embriões, e possui gentamicina como antibiótico. O sêmen foi diluído até a concentração de $1,2 \times 10^9$ /ml, após diluição depositado em um tubo do tipo Falcon, e mantido em banho-maria à 38°C, posteriormente envasado em palhetas de 0,25 mL. Constantemente o sêmen foi avaliado, para certificar-se das condições mínimas citadas acima. Além disso, após 3 horas de uso o sêmen restante foi descartado e procedeu-se novas colheitas.

5.2.5 Inseminação Artificial

As ovelhas foram submetidas à jejum (Alimento/Água) por 12 horas, este procedimento é muito importante no método de IA laparoscópica, para reduzir a possibilidade de perfuração do rúmen e/ou bexiga.

A IA foi realizada com as fêmeas contidas em maca, em decúbito dorsal, numa angulação de 45° em relação ao solo, antes da contenção aplicou-se 10 mg de xylasina (Rompum[®], Bayer Saúde Animal – Brasil), para que não ocorresse a movimentação das ovelhas no momento da inseminação. Realizou-se a tricotomia entre o umbigo e a glândula mamária, em seguida procedeu-se a desinfecção no local com Iodo Polvidine tópico. Após este procedimento o iodo foi removido com álcool à 70% para evitar danos ao laparoscópio.

Em seguida foram realizadas duas incisões na pele com o auxílio de um bisturi à 3 cm da linha média em ambos os lados e cerca de 10 cm da inserção da glândula mamária. Realizou-se a IA com o auxílio de laparoscópio (Karl Storz, Germany). Introduzindo-se o laparoscópio no abdômen, mediante o emprego de dois trocateres de 7 mm. Por meio de um dos trocateres procedeu-se à insuflação da cavidade abdominal com ar comprimido e penetração do telescópio, enquanto que por intermédio do outro trocater foi introduzido um manipulador para localização do útero e, posteriormente, um aplicador dotado de uma bainha específica para inseminação (Aspic[®] IMV do Brasil – São Paulo), este possui uma pequena agulha na extremidade permitindo a sua introdução até à luz uterina, sendo metade da dose do sêmen (0,125 mL), depositada terço médio de cada corno uterino. Após a inseminação aplicou-se nos locais das

incisões resultantes da introdução dos trocateres, spray cicatrizante e repelente (Mata Bicheiras Ford Dodge, Ford Dogde – São Paulo) para prevenção de miíases.

5.2.6 Repasse com Carneiros

Dez dias após as inseminações foram introduzidos no lotes carneiros da raça Santa Inês, para que estes realizassem a monta natural nas ovelhas que voltaram a apresentar estro. Os carneiros permaneceram junto com as ovelhas por 20d.

5.2.7 Diagnóstico de Prenhez

O diagnóstico de prenhez foi realizado com o auxílio de um aparelho de ultrasonografia (Honda - HS-1500 – Echo – São Paulo), com a utilização de uma probe setorial (5,5 – 7,5 Mhz) pelo meio trans-abdominal. A ultrasonografia foi realizada aos 55 dias após a IATF, para determinação da idade da gestação (IATF = 55d e primeiro cio após IATF= 38d).

5.2.8 Analise Estatística

Os dados referentes a taxa de prenhez IATF/repasse foram analisados através do procedimento GENMOD do programa estatístico SAS (1999) e realizou-se o teste de Qui-quadrado à 5%. Já os dados referentes a distribuição e aparecimento de estro foram analisados pelo procedimento GLM do mesmo programa, sendo realizado o teste de Tukey à 5%. Foi admitido um nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

5.3 Resultados e Discussão

A taxa de detecção do estro foi 15,7% menor no tratamento IATF (Tabela 4) quando comparado ao tratamento IA ($P < 0,05$).

Tabela 4 - Porcentagem de aparecimento de estro e tempo médio para apresentação após a retirada do dispositivo vaginal

	Tratamentos ¹			
	MN	IATF	IATF+GnRH	IA
Taxa de Estro ²	59/69 (85,5) ^{ab}	48/66 (72,7) ^b	56/66 (84,85) ^{ab}	61/69 (88,4) ^a
Tempo Médio Estro ³	34:47 ± 8:57	31:47 ± 8:06	30:04 ± 7:34	34:24 ± 10:59
Tempo Médio IA ⁴	34:47 ± 8:57 ^b	48:47 ± 1:25 ^a	47:20 ± 2:01 ^a	47:40 ± 11:17 ^a

¹Tratamentos: MN= monta controlada com carneiro; IATF (48h)= inseminação artificial em tempo fixo às 48 horas após a retirada dos dispositivos; IATF+GnRH= inseminação artificial em tempo fixo com 50% das fêmeas em cio, com dose de 0,05mg gonadorelina na IA; IA= inseminação artificial sistema AM/PM. ²Taxa de aparecimento de estro. ³Tempo médio para aparecimento do estro após a retirada do dispositivo. ⁴Tempo médio para realização da AITF, após a retirada do CIDR. Valores entre parênteses são apresentados em porcentagem. Letras diferentes na mesma linha diferem entre si, no teste de Tukey à 5%. (P<0,05)

Essa menor taxa de estro pode ter sido influenciada pela preferência dos rufiões por algumas ovelhas, observou-se durante a visualização do estro, que apesar de haver muitas ovelhas em estro, algumas ovelhas eram montadas várias vezes pelos rufiões, aparentemente estas ovelhas possuem influência maior sobre os machos, este fator pode estar associado a dominância exercida por elas dentro do grupo. Como as ovelhas deste tratamento foram inseminadas em tempo fixo (48h), não houve qualquer movimentação na baia onde elas estavam. Os tratamentos MN, IATF+GnRH e IA, a cada 4 horas era realizada a retirada das ovelhas que haviam apresentado estro (montadas mais de quatro vezes). A retirada das ovelhas tinha como objetivos: levar as ovelhas para inseminação no tratamento IA; evitar a sobrecarga do uso dos machos e/ou rufiões nos lotes MN e IATF+GnRH respectivamente.

Os dados da detecção do estro no tratamento IATF (Figura 6), demonstram após o período da IA, houve apenas uma ovelha que apresentou estro, este fato pode estar relacionado com o estresse causado pela movimentação e aplicação de Xylasina (Rompum®, Bayer animal health – Brasil). Em estudo realizado por Stafford et al. (2006) encontraram teores de cortisol significativamente altos, e com duração média de 90 minutos, nas ovelhas suspensas na maca de inseminação. Da mesma forma Khalid, Haresign e Bradley (1998) também observaram, que tanto para fêmeas submetidas à inseminação cervical, quanto as submetidas à laparoscopia, houve um pico de cortisol

semelhante, logo após a movimentação e contenção das ovelhas no cavalete e ou maca para os respectivos métodos de IA, sugerindo assim que ambos os métodos são estressantes. No presente experimento observou-se que após a inseminação, as ovelhas apresentavam letargia, menor movimentação e/ou decúbito externo (deitadas), dificultando assim a detecção do estro pelos rufiões.

A detecção do estro para os demais tratamentos não diferiu ($P>0,05$), e foi de 85,5, 84,8 e 88,4% para MN, IATF+GnRH e IA, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira et al. (2009), que trabalharam com ovelhas da raça Santa Inês submetidas a um protocolo de 14d, e encontraram média de 88,5% de detecção de estro. Da mesma maneira, Gastal et al. (2007), também observaram manifestação de estro e obtiveram 90% das ovelhas sincronizadas. Porém utilizaram esponjas vaginal por apenas 6d associado à aplicação de 250 UI de eCG.

Os tempos médios da detecção do estro após a retirada do CIDR (Tabela 5), não diferiram entre os tratamentos ($P>0,05$), onde se obteve uma média de 32:45 horas. Este valor foi menor que o encontrado por Dias et al. (2001), Ungerfeld; Rubianes (2002), Leiva et al. (1998) que encontraram valores próximos à 44 horas. Segundo Neves e Luz (1994); Pearce e Oldham (1983), os protocolos de sincronização associados ao uso de eCG, apresentam menores intervalos para apresentação do estro. Isto pode ser explicado, pelo fato da gonadotrofina provocar um aumento na concentração de estrógeno, induzindo um aparecimento precoce do estro e do pico pré-ovulatório de LH e FSH.

Godfrey; Gray; Collins (1995), avaliaram a sincronização com utilização do CIDR e sincronização somente com PGF em ovelhas. O grupo de ovelhas que recebeu o dispositivo, apresentou estro em 33:10 \pm 9:10h. Os resultados deste trabalho coincidem com os encontrados por Rabassa et al. (2007), após sincronizarem ovelhas com esponjas vaginais impregnadas com 60mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) mantido por 11d, associado a aplicação de 500UI de eCG, onde 80% das ovelhas apresentaram estro até as 60 horas.

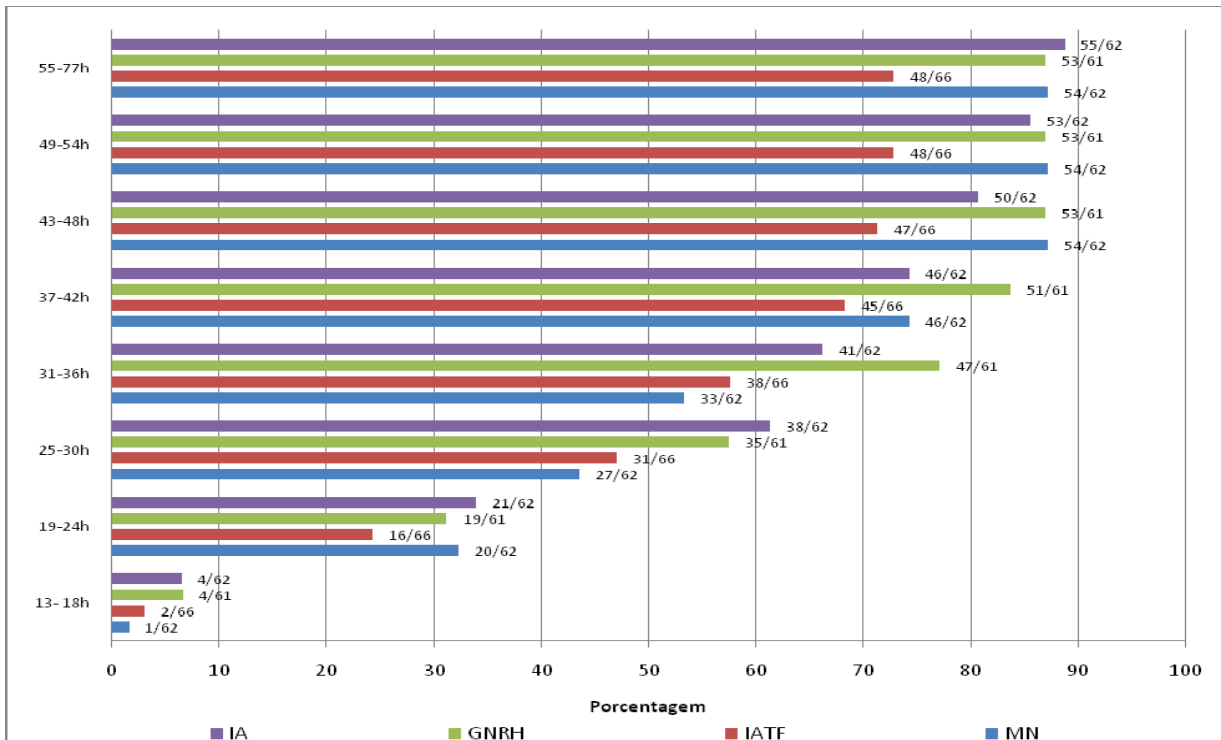
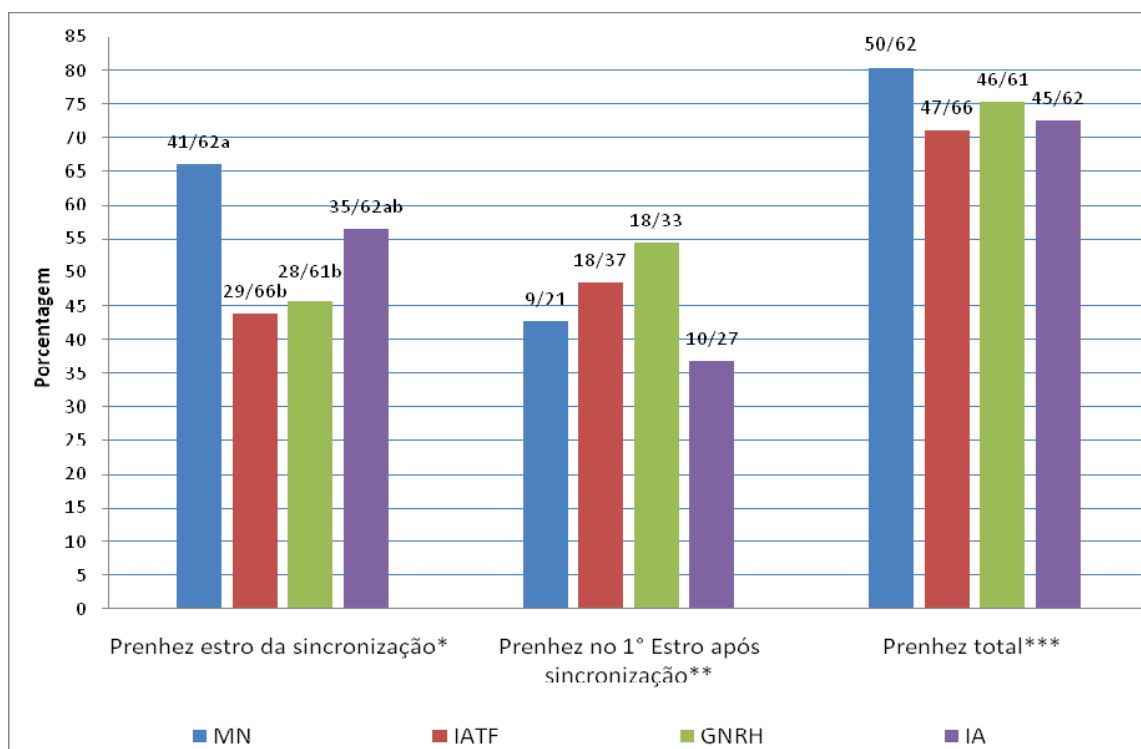


Figura 6 - Porcentagem acumulada da detecção de estro, estratificado a cada 6 horas, a partir da retirada do CIDR. MN= monta controlada com carneiro; IATF (48h)= inseminação artificial em tempo fixo às 48 horas após a retirada dos dispositivos; IATF+GNRH= inseminação artificial em tempo fixo com 50% das fêmeas em cio, com dose de 0,05mg gonadorelina na IA; IA= inseminação artificial sistema AM/PM

A taxa de prenhez diferiu entre os tratamentos ($P < 0,05$), como demonstrado na Figura 7. Os resultados encontrados foram de 66,1, 43,8, 45,0 e 54,7% para os tratamentos MN, IATF, IATF+GnRH e IA, respectivamente. O tratamento MN foi superior IATF e IATF+GnRH (Figura 7). Porém, quando comparamos a taxa de detecção de estro com a taxa de prenhez deste tratamento, observa-se diferença de 19,4% menor para a taxa de prenhez. Tal fato pode ter ocorrido devido ao uso intenso dos machos em um curto período de tempo, uma vez que ocorreu a sincronização, este uso intenso pode ter acarretado a ejaculação de espermatozóides imaturos e conseqüentemente menor fertilidade. Esta também pode ter sido influenciada pela fase do ciclo estral onde iniciou o protocolo, pois é possível que tenha levado ao

envelhecimento do folículo dominante e conseqüentemente à oócitos de baixa qualidade (MIHM et al., 1999). A taxa de prenhez nas ovelhas inseminadas por laparoscopia neste experimento foi semelhante aos resultados obtidos por Sayre e Lewis (1996), que obtiveram 37,5% de prenhez realizando a IATF com sêmen fresco, 54 horas após a retirada dos dispositivos.



* Prenhez obtida no cio da sincronização de estro. ** Prenhez obtida no primeiro ciclo estral após a sincronização. ***Resultado da soma da prenhez obtida na sincronização com a prenhez do primeiro ciclo estral.

Figura 7 - Taxa de prenhez dos tratamentos no estro da sincronização, no primeiro estro após a sincronização e total. MN= monta controlada com carneiro; IATF (48h)= inseminação artificial em tempo fixo às 48 horas após a retirada dos dispositivos; IATF+GNRH= inseminação artificial em tempo fixo com 50% das fêmeas em cio, com dose de 0,05mg gonadorelina na IA; IA= inseminação artificial sistema AM/PM

A taxa de prenhez no tratamento IA não diferiu ($P>0,05$) dos tratamentos IATF e IATF+GnRH. A taxa de prenhez no estro seguinte a sincronização foi superior ($P<0,05$), para os animais que foram submetidos ao tratamento IATF+GnRH com relação ao tratamento MN. O tempo médio entre a retirada do CIDR até a IATF para o tratamento IATF+GnRH foi de $47:23 \pm 2:04h$, quando aplicou-se 0,05 mg de Gonadorelina. Realizou-se a administração de GnRH em ovelhas tratadas com FSH ou eCG ocorre a sincronização do momento da ovulação. Protocolos com a utilização de GnRH, demonstram resultados com alta sincronização do momento ovulatório (MENCHACA; RUBIANES, 2004). Takada et al. (2003) utilizaram em 12 ovelhas da raça Suffolk durante a pré-estação reprodutiva MAP, benzoato de estradiol e GnRH, observaram que 91,7% dos animais ovularam entre 52 e 82 horas após a retirada das esponjas. Segundo Quirke et al. (1979) relataram que, quando aplicou-se 50 μ g de GnRH, 24 horas após a retirada das esponjas impregnadas com progesterona, a ovulação ocorreu em 45% das ovelhas 24 horas após, e em todas as ovelhas 34 horas após. Com base nestes dados podemos afirmar, que a aplicação do GnRH ocorreu tardiamente, não influenciando na taxa de prenhez da IATF do presente estudo. A maior taxa de prenhez no estro seguinte à sincronização no tratamento IATF+GnRH com relação ao tratamento MN, pode estar sendo influenciada diretamente pela aplicação do GnRH, pois houve uma sincronização da ovulação. Outro fator seria o maior número de ovelhas susceptíveis de apresentar estro, pois a taxa de prenhez na IA do tratamento IATF+GnRH foi inferior a taxa do tratamento MN.

5.4 Conclusões

O protocolo de 11 dias, com eCG e PGF2 α , mostrou-se eficiente em induzir a manifestação de estro em 79% dos animais submetidos à sincronização.

A inseminação artificial por laparoscopia, 12 horas após a detecção do estro (AM/PM), propiciou índice de prenhez, semelhante à programas que utilizam monta natural após a sincronização do estro, porém também semelhantes a IATF em 48h.

A aplicação de 0,05 mg de gonadorelina (GnRH) no horário da IATF, não influenciou na taxa de prenhez.

Referências

- CAMPBELL, J. W.; HARVEY, T. G.; MCDONALD, M. F.; SPARKSMAN, R. I. Transcervical insemination in sheep: an anatomical and histological evaluation. **Theriogenology**, Montgomery, v. 45, p. 1535-1544, 1996.
- CRUZ JUNIOR, C.A. **Caracterização anatômica e histológica da cérvix de ovelhas da raça Santa Inês**. 2006. 45 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2006.
- DELIGIANNIS, C.; VALASI, I.; CA REKKAS, C.A.; GOULAS, P.; THEODOSIADOU, E.; LAINAS, T.; AMIRIDIS, G.S. Synchronization of Ovulation and Fixed Time Intrauterine Insemination in Ewes. **Reproduction in Domestic Animals**, Uppsala, v. 40, p. 6–10, 2005.
- DIAS, F.E.F.; LOPES JUNIOR, E.S.; VILLAROEL, A.B.S., RONDINA, D.; LIMA-VERDE, J.B.; PAULA, N.R.O.; FREITAS, V.J.F. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 5, p. 618-626, out. 2001.
- GASTAL, G.D.A.; SCHEID FILHO, V.B.; SCHIAVON, R.S.; FERNANDES, F.; LUCIA Jr., T. Desempenho reprodutivo em ovelhas texel após sincronização de estro com pessários intravaginais reutilizados. In: CIC PESQUISA E RESPONSABILIDADE AMBIENTAL, 16., 2007, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPEL, 2007
- GHALSASI, P.M.; NIMBKAR, C. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. **Small Ruminant Research**, Little Rock, v. 23, p. 69-73, 1996.
- GODFREY, R.W.; GRAY, L.; COLLINS, J.R. Estrus synchronization of sheep in the tropics using either controlled internal drug release (CIDR) dispensers or prostaglandin F2a (PGF). **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 73, p. 232, 1995.
- HUSEIN, M.Q.; BAILEY, M.T.; ABABNEH, M.M.; ROMANO, J.E.; CRABO, B.G.; WHEATON, J.E. Effect of eCG on the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside the breeding season. **Theriogenology**, Montgomery, v. 49, p. 997-1005, 1998.
- KHALID, M.; HARESIGN, W.; BRADLEY D.G. Heart-rate responses and plasma cortisol concentrations in ewes: comparison between cervical and laparoscopic intrauterine insemination and their associated handling procedures. **Journal of Animal Science**, Savoy. v. 66, p. 383 -387, 1998.

LEYVA, V.; BUCKRELL, B.C.; WALTON, J.S. Follicular activity and ovulation regulated by exogenous progestagen and PMSG in anestrus ewes. **Theriogenology**, Montgomery, v. 50, p. 377-393, 1998.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. **Reproduction Fertility and Development**, Collingwood, v. 16, p. 403-413, 2004.

MIHM, M.; CURRAN, N.; HYTTEL, P.; KNIGHT, P.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. **Journal Reproduction and Fertility**, Colchester, v. 116, p. 293-304, 1999.

NEVES, J.P.; LUZ, S.L.N. Inseminação laparoscópica em ovelhas com cio natural e induzido sincronizado antes e durante a estação reprodutiva. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 4, n. 1, p. 133-137, 1994.

OLIVEIRA, M.E.F.; RODRIGUES, L.F.S.; ALMEIDA, O.M.; CORDEIRO, M.F.; MOURA, A.C.B.; SOUSA, H.L.L.; LOUREIRO, F.N.; TEIXEIRA, P.P.M.; PENHA FILHO, M.M.; VICENTE, W.R.R. Eficiência do protocolo ovsynch em ovelhas da raça Santa Inês. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 58, p. 1-4, 2009.

PEARCE, D.T.; OLDHAM, C.M. Ram effect in the breeding season. In: ANNUAL CONFERENCE OF THE AUSTRALIAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE BIOLOGY, 15., 1983, Canberra. **Proceedings...** Abstract 49.

QUIRKE, J.R.; JENNINGS, J.J.; HANRAHAN, J.P.; GOSLING, J.P. Oestrus, time of ovulation, ovulation rate and conception rate in progestagen-treated ewes given GnRH, GnRH- analogues and gonadotrophin. **Journal Reproduction and Fertility**, Colchester, v. 56, p. 479-488, 1979.

RABASSA, V.R.; TABELÃO, V.C.; PFEIFER, L.F.M.; SCHNEIDER, A.; ZIGUER, E.A.; SCHOSSLER, E.; SEVERO, N.C.; DEL PINO, F.A.B.; CORRÊA, M.N. Efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo-fixo. **Ciência Animal Brasileira**, Goiania, v. 8, n. 1, p. 127-133, jan./mar. 2007

SAYRE, B.L.; LEWIS, G.S. Cervical dilation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewes. **Theriogenology**, Montgomery, v. 45, p. 1523-1533, 1996.

STAFFORD, K.J.; CHAMBERS, J.P.; SYLVESTER, S.P.; KENYON, P.R.; MORRIS, S.T.; LIZARRAGA, I.; DE NICOLO, G. Stress caused by laparoscopy in sheep and its alleviation. **New Zealand Veterinary Journal**, Massey, v. 54, p. 109-113, 2006.

TAKADA, L.; BICUDO, S.D.; CARVALHO, C.F.R.; LENS, F.F.; BIANCHINI, D. Avaliação dos momentos do início do estro e da ovulação em ovelhas Sulffolk submetidas a

protocolo de curta duração para a sincronização do estro na pré-estação reprodutiva. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 27, n. 3, p. 475 - 477, 2003.

UNGERFELD, R.; RUBIANES, E. Short term primings with different progestagen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG estrous induction in anestrus ewes. **Small Ruminant Research**, Little Rock, v. 46, p. 63-66, 2002.