

Identificação do intervalo de tempo fixo para o emprego da inseminação artificial laparoscópica com sêmen congelado em ovelhas Santa Inês

Identification of a fixed-time interval for use of laparoscopic artificial insemination with frozen semen in Santa Inês ewes

Mariana Gilberti¹, Antonio Carlos Duenhas Monreal²

¹ Rua Vitório Zeolla, 1431, Carandá Bosque II, CEP: 79032-360, Campo Grande-MS
E-mail: marianagilberti@hotmail.com

² Mestrado em Ciência Animal, Área de Produção Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande-MS.
E-mail: monreal@nin.ufms.com.br

Recebido: 08/12/2008 Aceito: 22/12/2008

Resumo: Entre as biotecnologias da reprodução animal, a indução e controle do estro e a inseminação artificial são frequentemente utilizadas na busca por melhoramento genético e produtividade. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência da inseminação artificial com tempo fixo (IATF) realizada 48, 60 e 72 horas após a retirada do dispositivo interno de liberação de drogas (CIDR), através da fertilidade, em ovelhas deslanadas da raça Santa Inês, inseminadas por laparoscopia, com sêmen congelado durante a estação reprodutiva. Frente aos resultados obtidos, pode-se concluir que o melhor intervalo de horário para a realização da inseminação intra-uterina por laparoscopia com tempo fixo e utilizando sêmen congelado, em ovelhas da raça Santa Inês, está entre 48 e 60 horas.

Palavras-chave: IATF, ovinos, progesterona.

Abstract: Of the breeding biotechnologies available for use in animal, estrus induction and control and artificial insemination are those more frequently employed when genetic improvement and increased productivity are sought. The purpose of the present investigation was to evaluate, based on fertility outcomes, the efficiency of fixed-time artificial insemination (FTAI) carried out 48, 60, and 72 h after removal of a controlled internal drug release (CIDR) device in ewes of the Santa Inês breed inseminated by laparoscopy with frozen semen during the breeding season. From the results, it was possible to conclude that the best interval for FTAI with frozen semen in Santa Inês ewes in the breeding season ranges from 48 to 60 h after removal of the intravaginal device.

Key-words: FTAI, ovines, progesterone.

Introdução

Com um rebanho mundial de 1.079.006.000 cabeças, a ovinocultura está apresentando um ciclo de crescimento, o qual se intensificou nas últimas décadas, sobretudo em países em desenvolvimento, atualmente, detentores dos maiores rebanhos. Acompanhando essa tendência, projeta-se uma multiplicação em cinco vezes o rebanho brasileiro atual para os próximos vinte anos. Serão mais de 100 milhões de cabeças de ovinos (ANUALPEC, 2008).

O rebanho nacional de ovinos é da ordem de 15.200.000 cabeças, sendo que 48,1% concentram-se na região Nordeste. Entretanto, a ovinocultura apresenta-se em crescimento tecnológico e expansão numérica nas diversas regiões do Brasil, sendo que no Centro-Oeste encontra-se 4,9% do rebanho nacional (ANUALPEC, 2005).

O processo de globalização da economia vem permitindo a expansão da demanda por produtos de origem animal, exigindo a intensificação dos sistemas de produção pecuária requerendo o uso de genética superior, já que a maioria do rebanho nacional é composto por animais sem raça definida (SRD), sem especialização para a produção de carne, pele, lã ou leite (FIGUEIREDO *et al.*, 1980).

Dentro dessa perspectiva, há ampla necessidade em assistir-se a reprodução dos ovinos, seja para permitir o aumento da eficiência reprodutiva e/ou produtiva dos rebanhos, ou para a multiplicação mais eficiente dos genótipos, sendo a inseminação artificial uma alternativa eficiente disponível à genética populacional aplicada. Nesse contexto, sua adoção pode ser ampliada pelo uso concomitante da sincronização do estro e da ovulação, facilitando seu uso e permitindo um manejo eficiente dos rebanhos em lotes, além de proporcionar a concepção das fêmeas fora da estação reprodutiva, aumentar a prolificidade natural, antecipar a puberdade e reduzir o número de serviços por concepção (GONZALEZ *et al.*, 2006).

As vantagens do uso de inseminação artificial dependem do controle de estro e da ovulação, sendo que os métodos mais utilizados para a indução e sincronização de estro e estimulação do crescimento folicular em ovelhas envolvem progesterona (P_4) e/ou progestágenos e a administração intramuscular de gonadotrofina coriônica equina (eCG). Entretanto, a primeira barreira é a diminuição na taxa de fertilidade, que está estritamente relacionada com a grande variabilidade no horário e no número de ovulações, uma vez que, parte dessa variação, pode ser atribuída à quantidade total de folículos em crescimento presentes no ovário antes do tratamento (NOEL *et al.*, 1994).

Assim, a inseminação artificial (IA) apresenta-se como uma técnica de incremento reprodutivo, sendo a adequada seleção dos atributos produtivos e reprodutivos de machos e fêmeas fundamental para a maximização do potencial dessa técnica (FOULLEY *et al.*, 1990), visto que o desenvolvimento de um

programa de IA economicamente viável, destinado a um grande número de rebanhos, com a utilização de sêmen fresco ou congelado, depositado na cérvix ou no útero, permite o aproveitamento racional de carneiros geneticamente superiores (HALBERT *et al.*, 1990; SAYRE & LEWIS, 1997).

Entretanto, a determinação do tempo preciso entre o intervalo de remoção do dispositivo intravaginal e o estro é um importante fator que determina o sucesso da IA, porém raça, nutrição, estado fisiológico, ambiente e estação do ano também influenciam nos índices de fertilidade. Dentro desse contexto, vários experimentos têm sido realizados no Brasil, em diferentes situações na tentativa de identificar qual o melhor horário para se realizar a inseminação artificial em ovinos, sendo que vários horários tem sido descritos como os ideais para obter-se bons índices de prenhez, entretanto estas informações para a raça Santa Inês no Mato Grosso do Sul são escassas.

Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência da inseminação artificial com tempo fixo (IATF), pela fertilidade, em ovelhas deslanadas da raça Santa Inês, inseminadas por laparoscopia realizada 48, 60 e 72 horas após a retirada do CIDR, com sêmen congelado durante a estação reprodutiva.

Material e Métodos

Durante a estação reprodutiva, no mês de fevereiro, na região de Campo Grande- MS, sob latitude de 20°34'44", 84 ovelhas deslanadas da raça Santa Inês, com idade variando entre 18 e 24 meses, primíparas, com peso corporal de $50 \pm 4,5\text{kg}$, e previamente avaliadas quanto ao estado clínico geral, sanitário e reprodutivo, foram distribuídas em três grupos de 28 animais e submetidas à inseminação artificial com tempo fixo por laparoscopia, com sêmen congelado proveniente de uma única partida e carneiro de central credenciada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), 48 horas (Grupo I), 60 horas (Grupo II) e 72 horas (Grupo III) após a retirada do dispositivo intravaginal.

Foi utilizado um protocolo de sincronização do estro de nove dias, empregando-se o dispositivo intravaginal Eazi-Breed CIDR® (Pfizer) impregnado com 0,33g de progesterona natural, o qual permaneceu inserido por nove dias (D0 a D9). No sétimo dia (D7) aplicou-se, em cada animal, 200UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Novormon 5000®, Syntex S.A.), na região glútea, por injeção intramuscular profunda feita com o uso de seringas e agulhas descartáveis. Quarenta e oito horas após a aplicação do eCG (D9), removeu-se o dispositivo intravaginal e, posteriormente, realizou-se as inseminações nos horários pré-fixados para cada grupo.

Um dia antes das inseminações realizou-se tricotomia da região paramamária de todas as ovelhas com gilete (Gillete®), água e sabão, sendo que as mesmas permaneceram as 12 horas antecedentes às inseminações em jejum

sólido e líquido. No momento da inseminação a região paramamária de todas as ovelhas foi desinfetada com iodo tópico (Biocid[®] - Pfizer).

Em seguida, as ovelhas foram sedadas, uma a uma, com cloridrato de xilazina (Rompun[®] - Bayer) na dosagem de 1,1 mg kg e foi feita anestesia local com 0,5mL de cloridrato de lidocaína (Xylocaína[®], Hoechst Marion Roussel) nos dois pontos onde introduziu-se os trocarteres. No procedimento anestésico, imobilizou-se cada ovelha em uma maca pivotante, com um sistema próprio para que o animal ficasse em decúbito dorsal e inclinado em um ângulo de 45°, de tal forma que as vísceras se deslocassem no sentido cranial, facilitando, com isso, a visualização do útero e ovários.

O instrumental para a inseminação laparoscópica, compunha-se por um laparoscópio rígido de 7mm de diâmetro, conectado a uma fonte de luz mediante um cabo de fibra óptica, e cânulas com trocarter, uma de 7mm para a introdução do laparoscópio, que também permite colocar CO₂ no abdômen com a ajuda de um insuflador, a fim de distender a parede abdominal e tornar possível a observação e a manipulação dos cornos uterinos; e outra de 5mm para deposição do sêmen dentro do corno uterino, para o qual utilizou-se material específico composto por um aplicador-palpador e uma pipeta de inseminação descartável. Esse material, que foi utilizado em todos os animais, ficou imerso em solução de água com desinfetante (Amonex TA[®] - Ouro Fino), entre uma inseminação e outra.

Na primeira punção com o trocarter de 7mm, 2-3cm à frente do úbere e 2-3cm à direita da linha média, foi introduzido o insuflador de CO₂ para distender a parede abdominal e proporcionar melhor visualização e manipulação do trato genital e, em seguida, retirou-se o insuflador e colocou-se a óptica no mesmo ponto.

Na sequência, o segundo trocarter de 5mm foi introduzido do lado esquerdo do abdômen e, através dele, o aplicador-fixador, com o qual localizou-se o útero e realizou-se a fixação da parede uterina, na altura da curvatura maior de um dos cornos, onde depositou-se a metade da dose de sêmen; a outra metade foi depositada no mesmo local do corno uterino oposto. Após esse procedimento, retiraram-se as cânulas e um ponto de sutura foi feito em cada orifício de introdução dos trocarteres com um ponto simples com fio catgut e agulha curva, seguido da aplicação spray desinfetante/cicatrizante e repelente (Bactrovet[®] - Köning). O tempo médio, cronometrado, para realizar a IATF em cada animal foi de 3 minutos.

Para realização do diagnóstico de gestação, as ovelhas foram posicionadas em estação e examinadas por meio de ultra-sonografia (SSD-500; Aloka Co. Ltda, Japão), com um transdutor linear de 7,5 Mhz (Modelo UST-660-7,5; Aloka Co. Ltda, Japão) transabdominal no lado direito, 45 dias após as inseminações.

O manejo nutricional iniciou-se 30 dias antes ao começo do experimento, com administração de *flushing* alimentar, composto de suplementação concen-

trada (70% NDT e 18% PB) no total de 300 gramas/cabeça/dia. As ovelhas foram mantidas em sistema de pastejo rotacionado, em uma área total de 10ha, subdividida em piquetes de 1ha, formados com capim *Brachiaria brizantha* cv. MG-4, onde, a cada cinco dias, fez-se a rotação do pastejo. Água e sal mineral foram consumidos “*ad libitum*”. Os animais foram acompanhados por médico veterinário durante todo o período experimental.

Os resultados dos índices de prenhez dos três grupos foram submetidos ao teste *qui-quadrado*.

Resultados e Discussão

Das 28 ovelhas inseminadas 60 horas após a retirada do CIDR (grupo II) 16 (57,1%) apresentaram-se gestantes, valor este estatisticamente superior em relação ao grupo III, inseminado às 72 horas, que apresentou seis animais gestantes (21,4%). Entretanto, em relação ao grupo I, inseminado 48 horas após a retirada do dispositivo intravaginal, o qual apresentou 12 animais gestantes (42,9%) não se observou diferença significativa (tabela 1).

A laparoscopia, largamente usada por Moses *et al.* (1997), em 1.824 ovelhas com observação do estro, demonstrou os melhores resultados no intervalo de 36 a 60 h, coincidindo com os dados obtidos neste experimento, de acordo com as respostas dos animais inseminados no intervalo de 48 a 60h, diferenciando, porém nos índices de parição, que foram inferiores.

Tabela 1. Índices de gestação obtidas no exame de ultra-sonografia, realizado 45 dias após as inseminações artificiais, em Campo Grande-MS, 2006.

Grupos IATF	Índice de Gestação (%)
G I (48 horas)	42,9 ^{ab}
G II (60 horas)	57,1 ^b
G III (72 horas)	21,4 ^a

Grupos com diferentes sobrescritos na mesma coluna diferem estatisticamente (*qui-quadrado*) ($p < 0,05$).

De acordo com os dados obtidos neste experimento, sugere-se que, para ovelhas da raça Santa Inês, criadas nas condições do presente experimento, o melhor intervalo de tempo para a realização da inseminação laparoscópica com sêmen congelado está entre 48 e 60 horas após a retirada do dispositivo intravaginal, intervalo este equivalente àqueles considerados como ideais para a realização deste tipo de inseminação artificial em ovelhas da raça Merino, que apresentaram melhores índices de prenhez quando inseminadas entre 48 e 72

horas (MAXWELL & BARNES, 1986; MAXWELL, 1986; EPPLESTON & ROBERTS, 1986), da raça Chios quando inseminadas 45 horas após a retirada do dispositivo intravaginal (BROZOS *et al.*, 1999), em ovelhas Leicester x Sweledale quando a inseminação ocorreu entre 54 e 60 horas (FINDLATER *et al.*, 1991), em ovelhas Suffolk inseminadas em 48 horas (FUKUI *et al.*, 1989; FINDLATER *et al.*, 1991) e em Border Leicester x Scottish Blackface, quando inseminadas entre 54 e 58 horas após a remoção do dispositivo intravaginal (AITKEN *et al.*, 1990). Entretanto, Fantinati *et al.* (2005) afirmam que o fator raça pode influenciar diretamente a determinação do melhor horário para a inseminação artificial, existindo grande variabilidade entre elas. Porém, o intervalo de 48 a 60 horas, observado neste experimento, o qual se apresentou com os melhores índices de fertilidade para ovelhas da raça Santa Inês, quando comparado aos dados de fertilidade de outras raças citados pelos autores acima, demonstrou-se equiparado, havendo pequena variação entre elas, provavelmente devido à influência do fator raça.

Ovelhas inseminadas por laparoscopia, com sêmen congelado, apresentaram índice de fertilidade de 61% (MIES FILHO *et al.*, 1984) e 60% (VALLET *et al.*, 1992; GHALSASI & NIMBKAR, 1996). Neste experimento, obtiveram-se valores semelhantes aos citados na literatura; quando se observou o índice de fertilidade do grupo II (57,1%) inseminado 60 horas após a retirada do dispositivo intravaginal. Esta proximidade deve-se, provavelmente, pela similaridade dos horários da realização das inseminações. Entretanto, o grupo III, inseminado às 72 horas, foi o que apresentou a menor taxa de fertilidade ao parto (14,28%) e a menor percentagem de ovelhas gestantes na ultra-sonografia (21,4%), muito provavelmente devido ao avanço do horário da inseminação em relação ao momento de ocorrência das ovulações.

As baixas taxas de fertilidade ao parto em relação aos índices de prenhez obtidos na ultra-sonografia, observadas neste experimento (tabela 2), revelaram, supostamente, alto índice de mortalidade embrionária, o qual reduziu significativamente as taxas de fertilidade em 14,33%, 7,1% e 7,12% para os grupos I, II e III, respectivamente, estando de acordo com Dias *et al.* (2001), evidenciado pela mesma causa, ou supostamente, também pelo aspecto nutricional (EDNEY, 1966). Já Ghalsasi & Nimbkar (1996) obtiveram respostas semelhantes entre o diagnóstico de gestação e a parição. Alguns fatores podem ter contribuído para estes resultados, entre eles a ocorrência da diminuição do desenvolvimento de embriões, se a taxa de ovulação for superior a três (DOLLING & NICOLSON, 1967; RESTALL *et al.*, 1976), o que geralmente ocorre em ovulações induzidas por eCG (ALLISON, 1975). Entretanto, atribuiu-se as perdas embrionárias ocorridas neste trabalho, provavelmente à carência nutricional das ovelhas no período posterior às inseminações, uma vez que fatores edafoclimáticos contribuíram para isso, concordando com Edney (1966) e Nancarrow (1994), para os quais embriões de ovelhas com escore corporal

baixo no momento da fecundação e/ou no decorrer da gestação estão mais sujeitos à mortalidade embrionária precoce.

Os fenômenos físicos, do meio ambiente, fisiológicos e endocrinológicos interferem nos resultados de gestação quando se utiliza inseminação artificial e sêmen preservado (KARAGIANNIDIS *et al.*, 2001). Além desses fenômenos, a temperatura, a época do ano e a idade do animal influenciam na fertilidade do rebanho, podendo comprometer os resultados e o investimento empregado (ANEL *et al.*, 2005). Estas alternativas parecem ser justificativas pertinentes aos resultados ora expostos neste trabalho em relação à absorção embrionária (tabela 2), mesmo utilizando laparoscopia com deposição do sêmen diretamente no útero, os índices contraditórios entre diagnóstico de gestação e parição permaneceram, bem como a influência do clima consideravelmente quente durante o experimento que pode ter favorecido os baixos índices de parição. O diagnóstico de gestação antes dos 60 dias pode mostrar-se ineficiente ou até perigoso em relação à gestação (DIAS *et al.*, 2001).

Tabela 2. Índice de ovelhas gestantes aos 45 dias após as inseminações na ultra-sonografia e percentagem de ovelhas paridas, em Campo Grande-MS, 2006.

Grupos IATF	Animais (n)	Gestantes (45 dias) (%)	Paridas (%)
GI (48 horas)	28	42,9% ^a	28,57 % ^a
GII (60 horas)	28	57,1% ^b	50,00% ^b
GIII (72 horas)	28	21,4 % ^a	14,28% ^a

Grupos com diferentes sobrescritos na mesma coluna diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Conclusões

Pode-se concluir, através dos resultados obtidos nesse experimento, que o melhor intervalo de horário para a realização da inseminação intra-uterina por laparoscopia com tempo fixo e utilizando sêmen congelado, em ovelhas da raça Santa Inês, está entre 48 e 60 horas.

Referências

- AITKEN, R.P.; WALLACE, J.M.; ROBINSON, J.J. A note on conception rates and litter sizes following the intrauterine insemination of ewes at an induced oestrus during seasonal anoestrus. **Animal Production**, v.50, p.379-382, 1990.
- ALLISON, A.J. Effect of nutritionally induced live-weight differences on the ovarian response and fertility in ewes treated with pregnant mares serum gonadotrophin. **Agric. Res.**, v.18, p.101-107, 1975.
- ANEL, L.; KAABI, M.; ABROUG, B. *et al.* Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. **Theriogenology**, v.63, p.1235-1247, 2005.
- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. Instituto FNP, 2008.
- BROZOS, C.N.; SARATSI, PH.; BOSCO, C. *et al.* The effect of bovine somatotropin (bST) administration on reproduction, progesterone concentration during lactation and LH-secretion during oestrus, in dairy ewes. **Anim. Reprod. Sci.**, n.56, p.177-187, 1999.
- 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, 2000, Viçosa-MG. **Anais...**, 2000.
- DIAS, F.E.F.; FERNANDEZ, D.R.P.; AGUIAR, G.V. *et al.* Sincronização do estro em ovelhas deslanadas com diferentes doses de eCG (equine Chorionic Gonadotrophin). In: SEMINÁRIO NORDESTINO DE CAPRINO-OVINOCULTURA, 1999, Recife-PE. **Anais...**, 1999. v.5. p.320-321.
- DOLLING, C.H.S.; NICOLSON, A.D. Vital statistics for an experimental flock of Merino sheep. IV – Failure in conception and embryo loss as causes of failure to lamb. **Aust. J. Agric. Res.**, n.18, p.767-788, 1967.
- EDNEY, T.N. Nutritional stress and pre-implantation embryonic mortality in Merino sheep. **J. Agric. Sci.**, n.6, p.287-293, 1966.
- EPPLESTON, J.; ROBERTS, E.M. The effects of progestagen, ECG and time of insemination on fertility in ewes following intrauterine insemination with frozen semen. **Aust. Vet. J.**, n.63, p.124-125, 1986.
- FANTINATI, P.; ZANNONI, A.; BERNARDINI, C. *et al.* Laparoscopic insemination technique with low numbers of spermatozoa in superovulated prepuberal gilts for biotechnological application. **Theriogenology**, n.63, p.806-817, 2005.
- FIGUEIREDO, E.A.D.; OLIVEIRA, E.R.; BELLAVER, C. **Performance dos ovinos deslanados no Brasil**. Sobral: EMBRAPA – CNPC, 1980. 32p.
- FINDLATER, R.C.F.; HAREIGN, W.; CURNOCK, R.M.; BECK, N.F. Evaluation of intrauterine insemination of sheep with frozen semen effects of time of insemination and semen dose on conception rates. **Animal Production**, n.53, p.89-96, 1991.

- FUKUI, Y.; AKAIKE, M.; ANZAI, H. E. ONO, H. Effect of timing of injection with pregnant mare serum gonadotropin on fixed-time artificial insemination of seasonally anoestrus ewes. **J. Agric. Sci.**, n.113, p.361-364, 1989.
- GHALSASI, P.M.; NIMBKAR, C. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. **Small Rum. Res.**, n.23, p.69-73, 1996.
- HALBERT, G.W.; DOBSON, H.; WALTON, J.S.; BUCKRELL, B.C. A technique for trans-cervix intrauterine insemination of ewes. **Theriogenology**, n.33, p.993-1010, 1990.
- KARAGIANNIDIS, A.; VARSAKELI, S.; KARATZAS, G.; BROZOS, C. Effect of time of artificial insemination on fertility of progestagen and PMSG treated indigenous Greek ewes, during non-breeding season. **Small Ruminant Research**, v.39, p.67-71, 2001.
- MACHADO, R.; AZEVEDO, H.C.; SALLES, H.O. *et al.* Sincronização do estro em cabras pelo reaproveitamento de implantes de norgestomet previamente utilizados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1996, Fortaleza-CE. **Anais...**, 1996.
- MAXWELL, W.M.C. Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronized oestrus. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. **Animal Reproduction Science**, n.10, p.301-308, 1986.
- MAXWELL, W.M.C.; BARNES, D.R. Induction of oestrus in ewes using a controlled internal drug release device and PMSG. **J. Agric. Sci.**, n.106, p.201-203, 1986.
- MIES FILHO, A.; ENDLER, J.O.; DUTRA, J. *et al.* Fertilidade e prolificidade de ovelhas inseminadas com sêmen congelado na primavera. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1984, Belo Horizonte-MG. **Anais...**, 1984. p.402.
- MINTON, J.E.; COOPINGER, T.R.; SPAETH, C.W. *et al.* Poor reproductive response of anoestrous Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. **Journal of Animal Science**, n.69, p.3314-3320, 1990.
- MOSES, D.; MARTÍNEZ, A.G.; ÍORIO, G. *et al.* A large-scale program in laparoscopic intra-uterine insemination with frozen-thawed semen in Australian Merino sheep in Argentina Patagonia. **Theriogenology**, p.651-657, 1997.
- NANCARROW, C.D. Embryonic mortality in the ewe and doe. In: ZAVY, M.T.; GEISERT, R.D. **Embryonic mortality in domestic species**. London: CRL Press, 1994. p.79-97.
- NOEL, B.; BISTER, J.L.; PIERQUIN, B. *et al.* Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. **Theriogenology**, n.41, p.719-727, 1994.
- RESTALL, B.J.; WILKINS, J.; KILGOUR, R.J. *et al.* Assessment of reproductive wastage in sheep. III – An investigation of a commercial sheep flock. **Aust. J. Agric. Anim. Husb.**, n.16, p.344-352, 1976.

SASA, A.; TESTON, D.C.; CRIVELLENTI, T.L., *et al.* Concentrações plasmáticas de progesterona em borregas lanadas e deslanadas durante o período de abril a novembro no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n.31, p.1150-1156, 2002.

SAYRE, B.L.; LEWIS, G.S. Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopic or trans-cervix intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes. **Theriogenology**, n.48, p.267-275, 1997.

VALLET, J.C.; BARIL, G.; LEBOUF, B. *et al.* Insémination artificielle intra-uterine sous controle laparoscopique chez les petits ruminants domestiques. **Ann. Zootech.**, n.41, p.300-305, 1992.