

# **Efeito do eCG na fertilidade de ovelhas mestiças inseminadas com sêmen congelado em tempo fixo durante a transição anestro-estro<sup>1</sup>**

*Fertility effect of eCG on crossbred ewes inseminated with frozen semen at fixed time during transition anestrus-estrous*

**Antônio Carlos Duenhas Monreal<sup>2</sup>, Lucas Rasi Cunha Leite<sup>3</sup>,  
Edwin Willian Bonfim Bakarji<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Local experimental: Corumbá, MS

<sup>2</sup> Departamento de Morfofisiologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

<sup>3</sup> Departamento de Economia e Administração da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

<sup>4</sup> Aluno de graduação do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Recebido: 05/06/2008 Aceito: 24/06/2008

**Resumo:** O uso de eCG melhora a atividade ovariana e é essencial para intensificar as respostas de ovulação e fertilidade principalmente durante o anestro em ovelhas. O objetivo deste trabalho foi comparar a fertilidade entre dois grupos experimentais de ovelhas recebendo eCG (300 UI) 48 h antes (G1) e no dia da retirada do dispositivo intravaginal (G2) e G3 (controle). As ovelhas (41) foram inseminadas em tempo fixo (50 h após a retirada do CIDR<sup>®</sup>) pela via transcervical com sêmen congelado. Os resultados apontam melhor sincronização no grupo G2 (81 %) em relação ao G1 (62,5 %) ( $p < 0,05$ ). Pela dosagem de progesterona plasmática, houve melhor sincronização no grupo G2. A prolificidade foi de 1,4 para os grupos experimentais G1 e G2. O melhor emprego de eCG ocorreu no momento da retirada do dispositivo intravaginal.

**Palavras-chave:** ovinos; sincronização; ECG; inseminação artificial.

**Abstract:** The use of eCG improves ovarian activities and it is essential to intensify the ovulation and fertility answers, mainly during anestrus on sheep. The purpose of this paper was to compare fertility between two sheep groups which received eCG (300 UI) 48 h before (G1) and at withdraw CIDR<sup>®</sup> device (G2) and G3 (control group). All does (41) were inseminated at fixed time (50h at withdraw CIDR<sup>®</sup> device) transcervical view with frozen semen. The results show better synchronization at G2 group (81 %) than G1 (62,5 %) ( $p < 0,05$ ). For progesterone assay, there was better synchronization at G2 group. The prolificity was 1.4 for G1 and G2 groups. The better eCG use was at withdraw device.

**Key-words:** sheep; synchronization; eCG; Artificial Insemination.

## Introdução

As ovelhas são poliéstricas estacionais e apresentam atividade sexual no início de dias curtos, sendo que no resto do ano permanecem em anestro estacional (RUBIANES, 2000).

O uso de hormônios para a indução e sincronização do cio, nos períodos de transição e estação reprodutiva, possibilita a obtenção de 90 % de fertilidade em ovelhas (MORAES et al., 2002). Apesar de ser uma ferramenta importante no manejo reprodutivo de ovinos, sabe-se que os protocolos de sincronização e indução de cio envolvem fármacos, mão-de-obra qualificada para desempenhar a atividade e produz anticorpos em uso repetido nos mesmos animais (BARIL et al., 1992; BODIN et al., 1997).

Apesar da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) transcervical ser cada vez mais utilizada no manejo reprodutivo de ovinos, algumas dificuldades ainda precisam ser superadas, porque ocorre diminuição na taxa de fertilidade, devido a grande variabilidade no tempo e número de ovulações durante a sincronização (NOEL et al., 1994).

O custo, número limitado de ovelhas aptas para a técnica, necessidade de tracionar a cérvix e dificuldade de passagem do canal cervical devido a sua anatomia são barreiras freqüentes (WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

Anel et al. (2005) relataram algumas dificuldades para justificar a baixa fertilidade do sêmen congelado como o estado nutricional das ovelhas que tem grande importância no sucesso da técnica. Campbell et al. (1996) relataram o aparecimento de aderência no canal cervical das ovelhas dias após a realização da inseminação artificial (IA) transcervical e atribuíram esse fato à pinça utilizada durante o processo para tracionar a cérvix.

Halbert et al. (1990) afirmaram que a IA transcervical pode ser usada em programas comerciais de IA com resultados semelhantes aos obtidos com a inseminação intra-uterina por laparoscopia, apresentando taxas de 70 % para a fertilidade.

Muitos fatores interferem na resposta da fertilidade em fêmeas, como raça, estado nutricional, lactação, intervalo pós-parto, estação do ano, idade, uso de gonadotrofina coriônica equina (eCG), tipo de progestágeno utilizado, tipo de inseminação artificial e o reconhecimento do estado fisiológico das fêmeas (COLAS, 1979; ROBINSON, 1979).

O uso de eCG injetado imediatamente depois da retirada do dispositivo, pode aumentar a taxa de ovulação (BOLAND et al., 1978), reduzir o intervalo da retirada do dispositivo para o estro e aumenta a sincronização do estro e ovulação durante a estação reprodutiva (COGNÌÈ et al., 1970).

Resultados de fertilidade com tempo fixo (60 h) foram melhores que os de 48 h (MAXWELL et al., 1984; EPPELSTON & ROBERTS, 1986), contrapondo-se com outros resultados desfavoráveis (SMITH et al., 1981).

A proposta da presente investigação foi avaliar os efeitos na fertilidade em dois tipos de protocolo para sincronizar ovelhas usando eCG 48 horas antes e no dia da retirada do dispositivo intravaginal durante o período de transição estacional em ovelhas mestiças Texel x SRD (sem raça definida) e Suffolk x SRD, no pantanal sul-matogrossense.

## Materiais e Métodos

O experimento foi realizado em uma fazenda localizada no município de Corumbá-MS. O clima da região é considerado tropical quente sub-úmido, sendo que a propriedade esta localizada em latitude 19° 01' S, longitude 57° 40' W e altitude de 141 metros. O período experimental compreende o fim de outubro e início de novembro/2006, ou seja, final da primavera e início do verão.

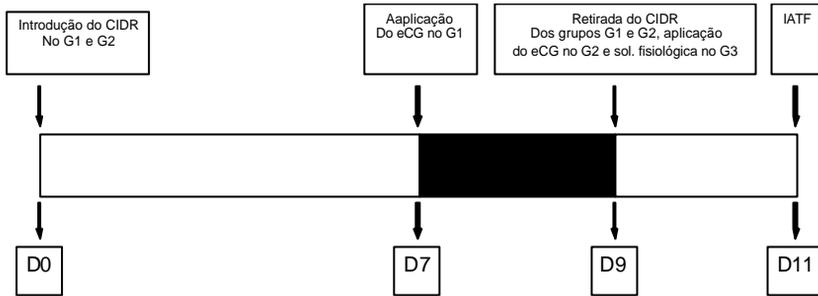
Utilizou-se um total de 61 ovelhas provenientes do cruzamento Texel X SRD (Sem raça definida)-n=30 e Suffolk X SRD-n=31. As ovelhas selecionadas com idade entre 3-5 anos, pesando 40-45 kg, múltíparas e criadas extensivamente, alimentando-se de *Brachiaria sp.*, com água e sal mineral *ad libitum*, recebendo suplementação com ração comercial concentrada/500g/animal/dia durante o período experimental. Todas as ovelhas não gestantes permaneceram isoladas dos machos, sendo distribuídas em três grupos, (G1-20 ovelhas, G2 – 21 ovelhas, G3-20 ovelhas). Os grupos foram compostos de 10 animais de cada cruzamento.

As ovelhas foram previamente examinadas quanto ao estado nutricional, clínico geral, sanitário e reprodutivo para serem selecionadas e foram vermifugadas 30 dias antes da sincronização do estro com albendazole (15mg/Kg/animal).

Sincronizaram-se os animais com implante vaginal de progesterona CIDR®, para os grupos G1 e G2, sendo o dia de aplicação do implante considerado como dia zero (D0). O CIDR® permaneceu nas mesmas durante um período de nove dias. Observaram-se os animais diariamente, durante o período da inserção do implante, de manhã e tarde, para que caso ocorresse a perda do CIDR®, fosse trocado o mais rápido possível.

As ovelhas do grupo G1 receberam via intramuscular, 300 UI (1,25 ml) de eCG (Novormon 5000®), 48 horas antes da retirada do CIDR®, dia (D7) do protocolo de sincronização. No grupo G2, os animais receberam a mesma quantidade de eCG, também via intramuscular, porém somente no momento da retirada do implante de progesterona, dia (D9) do protocolo de sincronização. Após esse período os animais aguardaram a inseminação artificial, que foi realizada 50 horas após a retirada do dispositivo intravaginal.

Os animais do grupo G3 permaneceram juntos aos animais dos demais grupos, sendo observado cios e receberam o mesmo volume de líquido de solução fisiológica no mesmo dia do grupo G2. A Figura 1 ilustra o protocolo de sincronização do estro utilizado na presente experimentação.



**Figura 1.** Protocolo de sincronização do estro utilizado em ovelhas dos grupos G1 e G2, Corumbá, 2006.

Realizou-se a inseminação artificial no período matutino, à sombra, 50 horas após a retirada do CIDR®. Para auxiliar a inseminação, construiu-se um cavalete pivotante com inclinação de 45°, feito com a metade de tambor plástico de 200 litros, acoplado a uma estrutura de ferro, com altura de 1,60 metros do chão, mantendo-se os animais em decúbito ventral sobre a metade do tambor.

Para realizar a IA, colocou-se cada ovelha sobre o cavalete, sendo necessário o auxílio de dois ajudantes para conter as patas traseiras e dianteiras para melhor comodidade do animal e do inseminador, tendo em vista a análise do tempo de inseminação com o auxílio de um cronômetro, e sorteou-se o grupo a ser inseminado primeiro.

Durante o processo, foi utilizado desinfetante Kiol® para higienização da região vaginal das ovelhas e dos equipamentos. Utilizaram-se para o processo, espêculo, pinça e três aplicadores de sêmen, que foram mantidos em uma bandeja plástica contendo algodão embebido de álcool 70°C.

O sêmen (comercial®) foi descongelado em uma caixa de isopor contendo termômetro digital para manutenção da temperatura da água em 37°C.

A IA iniciava-se com a introdução do espêculo vaginal para pequenos ruminantes. Após a introdução, abria-se o espêculo para poder localizar a cérvix. Com auxílio de uma lâmpada de cabeça, identificava-se e pinçava-se a lateral da cérvix (fórnix) com maior precisão. Tracionava-se a cérvix próximo à abertura da vagina e introduziu-se o aplicador pelo canal cervical acoplada à cânula, com força moderada, após ter passado pelo canal cervical, alcançava-se o útero; retirava-se a cânula e introduzia-se a palheta de sêmen e apertava-se o embolo para introdução do sêmen no útero.

Dispensou-se o tempo de dois minutos para cada animal, e todas as inseminações foram realizadas pelo mesmo inseminador e as que não possibilitaram a passagem do aplicador pela cérvix, o sêmen foi depositado no local mais próximo ao útero.

Para confirmação da gestação, foi utilizado o exame de ultrassonografia, 45 dias após a IA (inseminação artificial), SSD-500, Aloka Co.Ltda, Japão, com transdutor linear de 7,5 MHz (modelo UST-660-, 7,5, ALoka Co.Ltda, Japão).

Realizou-se a colheita de sangue em duas etapas. A primeira durante a introdução do CIDR® e a segunda, 50 horas após a retirada do CIDR®, coincidindo com a IATF.

Colheu-se o sangue em tubos vacutainer heparinizados de 10 mL, por venopunção da jugular, com seringas descartáveis, ato contínuo centrifugou-se a 3000 rotações por minuto durante 10 minutos e uma alíquota de 2 mL foi retirada e armazenada em tubos plásticos com tampa para estocagem e armazenamento em freezer doméstico. Todos os tubos de coleta e estocagem foram identificados previamente com o número e grupo do animal e a respectiva data da colheita para posterior dosagem.

A dosagem de progesterona plasmática foi realizada no Laboratório de Fisiologia e Endocrinologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Araçatuba – UNESP com kits comerciais® Coat a Count DPC pela técnica de radioimunoensaio, em um único ensaio, com CV de 5% e limite de detecção 0,1ng/mL.

Para a comparação da fertilidade entre os grupos foi utilizado o teste qui-quadrado com 95% de confiabilidade e foi empregada a análise de variância no intuito de comparar as médias das concentrações plasmáticas de progesterona nas duas colheitas entre os três grupos.

## Resultados e Discussão

Na Tabela 1 estão os dados de fertilidade para os dois grupos experimentais com a respectiva prolificidade e suas porcentagens.

**Tabela 1.** Fertilidade e prolificidade das ovelhas sincronizadas e inseminadas com tempo fixo (50h), Corumbá, 2006.

<i>Tratamentos</i>	<i>Ovelhas inseminadas</i>	<i>Fertilidade (%)</i>	<i>Prolificidade (%)</i>
(G1)	20	62,5 <sup>a</sup>	140
(G2)	21	81% <sup>b</sup>	140
(G3)	20	zero	zero

Letras diferentes na mesma coluna diferem (p<0,05)

Os protocolos de sincronização de cio que utilizam eCG estão bem estabelecidos sendo que uma única aplicação, no dia da retirada do dispositivo intravaginal, é suficiente para melhorar a resposta ovariana, taxa de prenhez, aumento da prolificidade (LANGFORD et al., 1982), concordando com os resultados deste experimento.

Sistemas de produção em ovinos dependem da capacidade da reprodução de ovelhas durante ou fora da estação reprodutiva. Muitos resultados conhecidos para a fertilidade durante a época da estação ou contra estação reprodutiva são variáveis, baixos e inconstantes para cada região que emprega a técnica de sincronização e seus respectivos protocolos. Esses resultados variaram de 3 a 67 % com o uso de hormônios (DAWE et al., 1969; CARPENTER & SPITZER, 1981; SMITH et al., 1988; KNIGHT et al., 1989; UNGERFELD e RUBIANES, 2002; KNIGHT et al., 2003; MORRIS et al., 2004, O'MEARA et al., 2007) ou sem o uso dos mesmos variando de 0 a 28 % (GOOT & MAIJALA, 1977; LEWIS et al., 1996). Concorde-se com os autores para os resultados relativos à fertilidade apresentados, com a utilização de hormônios para o grupo G1 (62,5 %), porém o grupo G2 atingiu 81 % ( $p < 0,05$ ), sendo favorecido provavelmente pela técnica e horário da inseminação artificial e a raça dos animais empregados.

A fertilidade de IATF realizada 60 h após a retirada do dispositivo foi melhor (61,8 %) quando comparada às 48 h (50,9 %) ( $p < 0,05$ ) com 250 UI de eCG aplicado no dia da retirada do dispositivo intravaginal (Romano et al., 1996). Na presente experimentação, os resultados para o grupo G1 e G2 foram superiores com 300 UI de eCG, sendo provável que o horário fixo de inseminação (50 h) favoreceu estes resultados. Husein et al. (1997) obtiveram resultados com a IA transcervical de 70 % na taxa de prenhez com esponja intravaginal durante 12 dias e 500 UI de eCG via intramuscular. No presente trabalho, com 300 UI de eCG foi possível obter taxas semelhantes.

Estudos semelhantes utilizando CIDR<sup>®</sup> por 12 dias com IA 48 horas após a retirada do mesmo obtiveram fertilidade inferior (52,9 %) (Godfrey et al., 1999), das verificadas neste experimento (62,5 % e 81 % para os grupos G1 e G2). King et al. (2004), usando progestágeno por 12 dias e administrando 400 UI de eCG, obtiveram taxas de prenhez de 42 % quando usaram IA transcervical, resultados inferiores aos deste experimento utilizando nove dias de inserção do dispositivo, possibilitando assim, rapidez no tratamento.

Este fato, muito provavelmente, pode explicar a ausência da estacionalidade reprodutiva mesmo em animais lanados, já adaptados à região, apesar da estacionalidade reprodutiva não estar presente em raças deslanadas (TRALDI, 1990).

A estação do ano não influenciou os valores de progesterona (P4) em protocolos de sincronização em ovelhas e pode ser correlacionado com a taxa de ovulação, porém para transferência de embriões tem suas reservas (CHAGAS & SILVA et al., 2003). No período de transição estacional os animais do G3 ainda estavam em anestro em sua maioria, pois não foi observado cio nos animais deste grupo durante o período experimental.

Fêmeas Corriedale foram inseminadas via cérvix e a média da fertilidade esteve entre 27 a 41 % com sêmen congelado e IA após 12 h da retirada do

progestágeno (Gil et al., 2003). O tempo fixo (50 h) possibilitou melhores resultados em relação às 12 h após o estro para inseminação realizado pelos referidos autores.

Para a profundidade da deposição do sêmen na cérvix, a média da fertilidade também esteve semelhante entre 24-29 % e os melhores resultados (43 %) foram para a deposição do sêmen mais profundo na cérvix (KARAGIANNIDIS et al., 2001), entretanto resultados superiores foram conseguidos com deposição do sêmen profundo (uterino) 62,5 e 81 % para G1 e G2 respectivamente, a localização para a deposição do sêmen e a técnica empregada favorecem os resultados, principalmente para o sêmen congelado.

A inseminação artificial transcervical em tempo fixo foi empregada em dois horários (48 e 72 h) em ovelhas Chios, Vlachiki e mestiça (Chios x Vlachiki), atingindo 60,7 e 63,7 % para a fertilidade (HUSEIN et al., 1997), já com 50 h, horário intermediário, atingiu-se 62,5 e 81 % para a fertilidade dos grupos G1 e G2 respectivamente. Assim, este horário para a realização da IATF favoreceu os resultados obtidos nas condições experimentais.

A tração da cérvix foi empregada para inseminar ovelhas lanadas e apresentaram resultados para fertilidade em 45 % (SOUZA et al., 1994b), resultados inferiores quando comparados aos desta experimentação, também com tração da cérvix (G1 e G2), notando-se que assim as técnicas para inseminação artificial mudam e se especializam a cada ano, bem como os protocolos de sincronização.

Médias de prolificidade foram semelhantes às obtidas na presente experimentação utilizando 400 UI de eCG (KING et al., 2004), porém foram inferiores a fertilidade pela mesma técnica (42 %) com 55 h, entretanto o tempo de inserção do dispositivo (9 dias) favoreceu a obtenção destes resultados.

A taxa de prolificidade variou de acordo com a raça, na dose de 400 UI de eCG (1,4 e 1,9 para ovelhas Irish e Norwegian respectivamente (DONOVAN et al., 2004), já com 300 UI de eCG, obteve-se resultados semelhantes (1,4), reduzindo o volume de medicamento e diretamente o custo por animal com as mesmas respostas.

A prolificidade com o uso de eCG (400 UI) para ovelhas Chios e Berrichon foi de 1,7 e 1,4 respectivamente (BOSCOS et al., 2002), já com 300 UI utilizado na presente experimentação, a prolificidade foi inferior (1,4) nos dois grupos experimentais (G1 e G2) em ovelhas mestiças Texel e Suffolk, a quantidade de eCG pode variar de acordo com vários fatores como categoria animal, lactação, idade, raça e latitude (BARIL et al., 1992; BODIN et al., 1997).

Sêmen congelado empregado com 57 h após a retirada do dispositivo pela técnica transcervical em ovelhas não superou valores de 18 % de fertilidade (O'MEARA et al., 2007), resultados superiores com 50 h e dosagem de 300 UI de eCG foram conseguidos, o fator inseminador beneficiou os resultados. Ainda no trabalho de Souza et al. (1994a) utilizando sêmen congelado em ovelhas

Ile de France, com IA via cervical, verificaram que 55,3% não retornaram ao estro. Resultados superiores foram atingidos com ovelhas mestiças, para os dois grupos G1 e G2, observando que a técnica da inseminação e o inseminador são fatores importantes para alterar os resultados.

Taxa de prenhez comparando-se a IA pela via cervical e laparoscópica não apresentaram diferença entre 30 e 50 dias de gestação (46 e 41 %, respectivamente), porém as de IA cervical foram baixas (5 e 4 %) (O'MEARA et al., 2007), os resultados de 62,5 e 81 % são mais interessantes para empregar em animais criados no campo em regime extensivo, sendo mais econômico seu emprego.

Gil et al. (2003) inseminaram ovelhas com sêmen congelado e obtiveram resultados diferentes para a profundidade de deposição do sêmen, superficial e profundo, com 22 e 43 % de fertilidade respectivamente, ainda assim, os resultados obtidos nesta experimentação foram superiores porque o local de deposição (intrauterino), favoreceu a fertilização.

Minton et al. (1990) mencionaram que valores de progesterona plasmática inferiores a 1ng/mL demonstram estro ou anestro e os valores superiores a 3 ng/mL classificam como diestro ou gestação. Neste trabalho, os valores de progesterona plasmática, na colheita 1, o prógestágeno determinou a sincronização ( $p < 0,05$ ) dos grupos G1 e G2 em relação ao grupo G3. Porém, na segunda colheita, observou-se sincronização dos animais pelo protocolo utilizado, sendo as dosagens médias de progesterona endógenas baixas (0,28; 0,20; 0,65 ng/mL) para o G1, G2 e G3 respectivamente.

As médias de dosagens de progesterona (P4) foi de  $0,28 \pm 0,45$  para o grupo G1 e no grupo G2 de  $0,20 \pm 0,09$  na inseminação artificial. Para a primeira colheita, com o uso de CIDR® foi de  $2,10 \pm 1,60$  e  $2,14 \pm 0,99$  (tabela 2). Estes valores foram superiores aos obtidos por Boscós et al. (2002) com 33,3 % dos animais em manifestação do estro, com 66,7 % em atividade ovariana.

A raça do animal também afetou o nível de progesterona após dois dias da retirada da esponja para ovelhas Chios e Berrichon com 400 UI de eCG conforme observado por Boscós et al. (2002) e a fertilidade foi inferior aos resultados obtidos neste experimento com sêmen congelado, o tempo fixo pela inseminação transcervical pode ter auxiliado os resultados e favorecendo o grupo G2 que recebeu eCG no dia da retirada do dispositivo, provavelmente o eCG aplicado no G1 antecipou a ovulação e prejudicou o grupo.

O efeito raça não determina variação na concentração hormonal de progesterona bem como a mesma não altera as diferenças na fertilidade com IA cervical utilizando sêmen congelado e 500 UI de eCG, entretanto a progesterona se apresenta níveis mais altos em fêmeas prolíferas do que as menos prolíferas (Fair et al., 2007), acredita-se que as ovelhas mestiças no pantanal sulmatogrossense brasileiro, a quantidade de 300 UI de eCG, não foi suficiente para aumentar a prolificidade e/ou alterar a fertilidade, podendo ser aumentada a dose para 350UI.

**Tabela 2.** Concentrações plasmáticas de progesterona na primeira colheita (sincronização) e segunda colheita (na IATF-50 h da retirada do CIDR®) com os respectivos desvios padrões(DP), Corumbá, 2006.

<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>D.P.</b>	<b>Média</b>	<b>D.P.</b>
<b>1</b>	20	2,10 <sup>a</sup>	1,60	0,28 <sup>b</sup>	0,45
<b>2</b>	21	2,14 <sup>a</sup>	0,99	0,20 <sup>b</sup>	0,09
<b>3</b>	20	0,93 <sup>a</sup>	1,86	0,65 <sup>a</sup>	1,42

Letras diferentes na mesma linha diferem (P<0,02)

Ovelhas em período de estação reprodutiva são mais susceptíveis ao progestágeno (CIDR®) quando comparadas ao período em anestro e a dosagem de progesterona plasmática tende a ser superior pelo efeito somatório do esteróide endógeno e exógeno (GODFREY et al., 1999). O período de transição nesta experimentação foi suficiente para sincronizar os animais (Tabela 2) e o horário fixo (50h) favoreceu os resultados positivos para a técnica empregada.

Na colheita dois de progesterona plasmática, observa-se que o grupo G2 foi melhor sincronizado, provavelmente, pelo emprego do eCG no dia da retirada do dispositivo, contrapondo-se ao grupo G1. Para o grupo G3, nota-se a variação de progesterona plasmática, pois alguns animais estavam ciclando (em estro) e determinaram a variação conforme o desvio padrão. Apesar desta variação hormonal, os animais do grupo G3, não apresentaram a manifestação clínica da ovulação (estro), sendo mais importante à impregnação prévia de progesterona endógena em ovelhas do que cabras, sem manifestação do estro e com a presença da ovulação (CHEMINEAU & DELGADILLO, 1994), típico do período de transição estacional, o que ocorreu neste experimento.

## Conclusões

A aplicação de eCG (300 UI) no dia da retirada do dispositivo intravaginal apresentou melhor resultado para fertilidade (81 %)(p<0,05) e sincronizou os animais uniformemente, observado pela dosagem de progesterona plasmática.

## Agradecimentos

O autor agradece a FUNDECT (Fundação de Apoio ao desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul), órgão de fomento estadual, por ter financiado parte deste projeto de pesquisa; a propriedade por ceder os animais e respectiva alimentação, instalações, funcionários e bem como a hospedagem e alimentação do grupo envolvido na atividade durante toda a realização da pesquisa; a UFMS (Universidade Federal de Mato Grosso do Sul) pelo transporte dos participantes do projeto, diárias do motorista e material de consumo utilizado na pesquisa.

## Referências

- ANEL, L.; KAABI M, ABROUG B. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in Churra ewes is a field assay. **Theriogenology**, v.63, p.1235-47, 2005.
- BARIL, G.; REMY B.; VALLET, J.C.; BECKERS, J.F. Effect of repeated use of estrus in goats: the relationships between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. **Theriogenology**, v.45, p.1553-59, 1992.
- 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**, v.37, p.651-60, 1997.
- BOLAND, M.P.; GORDON, I.; KELLEHER, D.L. The effect of treatment by prostaglandin analogue (ICI-80, 996) or progestagen (SC-9980) on ovulation and fertilization in cyclic ewes. **Journal Agriculture Science**, v.91, p.727-34, 1978.
- BOSCOS, C.M.; SAMARTZI, FC.; DELLI, S.; ROGGE, A.; STEFANAKIS, A.; KRAMBOVITIS, E. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. **Theriogenology**, v.58, p.1261-72, 2002.
- CAMPBELL, J.W.; HARVEY, T.G.; MCDONALD, M.F.; SPARKSMAN, R.I. Transcervical insemination in sheep: an anatomical and histological evaluation. **Theriogenology**, v.45, p.1535-44, 1996.
- CARPENTER, R.H.; SPTIZER, J.C. Response of anestrous ewes to norgestomet and PMSG. **Theriogenology**, v.15, p.389-93, 1981.
- CHAGAS E SILVA, J.; LOPES DA COSTA, L.; CIDADÃO, R.; ROBALO SILVA, J. Plasma progesterone profiles, ovulation rate, donor embryo yield and recipient embryo survival in native Salóia Sheep in the fall and spring breeding seasons. **Theriogenology**, v.60, p.521-32, 2003.
- CHEMINEAU, P.; DELAGADILLO, J.A. Neuroendocrinologie de la reproduction chez les caprins. **Production Animal**, Paris, v.7(5), p.315-26, 1994.
- COGNIE, Y.; MARIANA, J.C.; THIMONIER, J. Time of ovulation in natural or progestagen synchronized estrus with or without PMSG administration. **Animal Biochemistry and Biophysics**, v.10, p.15-24, 1970.
- COLAS, G. Fertility in the ewes after artificial insemination with fresh and frozen semen at the induced oestrus and influence of the photoperiod on the quality of the semen. **Livestock Production Science**, v.6, p.153-66, 1979.
- DAWE, S.T.; ROBERTS, E.M.; KILLEN, I.D. MAP intravaginal sponges for the induction of oestrus in anestrous Border Leicester x Merino ewes lactating ewes. **Australian Journal Experimental Agriculture Animal Husbandry**, v.9, p.385-88, 1969.
- DONOVAN, A.; HANRAHAN, J.P.; KUMMEN, E.; DUFFY P.; BOLAND, M.P. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronised oestrous. **Animal Reproduction Science**, v.84, p.359-68, 2004.
- EPPLESTON, J.; ROBERTS, E.M. The effects of progestagen, PMSG and time of insemination on fertility in ewes following intrauterine insemination with frozen semen. **Australian Veterinary Journal**, v.63, p.124-25, 1986.

- FAIR, S.; HANRAHAN, J.P.; DONOVAN, A.; DUFFY, P.; O'MEARA, C.M.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.O. Hormonal relationships during the periovulatory period among ewe breeds known to differ in fertility after cervical artificial insemination with frozen thawed semen. **Animal Reproduction Science**, v.97, p.284-94, 2007.
- GIL, J.; RODRIGUEZ-IRAZOQUI, M.; LUNDEHEIN, N.; SODERQUIST, L.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Fertility of ram semen frozen in Bioexcell® and used for cervical artificial insemination. **Theriogenology**, v.59, p.1157-70, 2003.
- GODFREY, R.W.; COLLINS, J.R.; HENSLEY, E.L.; WHEATON, J.E. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. **Theriogenology**, v.51, p.985-97, 1999.
- GOOT, H.; MAIJALA, K. Reproductive performance at first lambing and in twice-yearly lambing in a flock of Finnish Landrace sheep in Finland. **Animal Production**, v.25, p.319-29, 1977.
- HALBERT, G.W.; DOBSON, H.; WALTON, J.S. Field evaluation of a technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. **Theriogenology**, v.33, p.1231-43, 1990.
- HUSEIN, M.Q.; ABABNEH, M.M.; CRABO, B.G.; WHEATON, J.E. Out of season breeding of ewes using transcervical artificial insemination. **Sheep and Goats Research Journal**, v.12, p.39-45, 1997.
- 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.
- KING, M.E.; MCKELVEY, Q.A.C.; DINGWALL, W.S.; MATTHEWS, K.P.; GELBIE, F.E.; MYLINE, M.J.A.; STEWART, E.; ROBINSON, J.J. Lambing rates and litter sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen thawed semen with or without oxytocin administration. **Theriogenology**, v.62, p.1236-44, 2004.
- KNIGHT, T.W.; MCWILLIAM, W.H.; KANNEGIETER, S.G.; SORENSEN, E.S.; RIDLAND, C.J.; GIBB, M. Mating Romney ewes in late spring-december using CIDRS and pregnant mares serum gonadotrophin. **Proceedures New Zealand Society Animal Production**, v.489, p.255-60, 1989.
- KNIGHT, M.; BAPTISTE, Q.S.; DIXON, A.B.; PATE, J.L.; MARSH, D.J.; INSKEEP, E.K.; LEWIS, P.E. Effects of dosage of FSH, vehicle and time of treatment on ovulation rate and prolificacy in ewes during the anestrus season. **Small Ruminant Research**, v.50, p.1-9, 2003.
- LANGFORD, G.A.; HINSWORTH, L.; WOLYNETZ, M.S. Reproductive response of progestagen-treated sheep in confinement to a single and double insemination. **Journal Animal Science**, v.54, p.12-7, 1982.
- LEWIS, R.M.; NOTTER, D.R.; HOGNE, D.F.; MAGEE, B.H. Ewe fertility in the STAR accelerates lambing system. **Journal Animal Science**, v.74, p.511-22, 1996.
- MAXWELL, W.M.C.; BUTLER, L.G.; WILDON, H.R. Intrauterine insemination of ewes with frozen semen. **Journal Agriculture Science**, v.102, p.233-35, 1984.
- MINTON, J.E.; COOPINGER, T.R.; SPALTH, C.W. Poor reproductive response of anoestrus Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. **Journal of Animal Science**, v.69, p.3314-20, 1990.

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.B.D.; FIGUEIREDO J.R.; FREITAS, V.J.F. (org.). **Biotécnicas aplicadas à reprodução Animal**. São Paulo: Manole, 2002. p.25-55.

MORRIS, S.J.; MOREL, P.C.H.; KENYON, P.R.; KEMP, P.D.; BURNHAM, D.L.; WEST, D.M.; PETERSON, S.W.; GRAY, D.I.; SCOTT, I.; POMROY, W.E.E. Year round lamb production in the Mana water region – results from year one. **Procedure New Zealand Grass Association**, v.66, p.215-9, 2004.

NOEL, B.; BISTER, J.L.; PIERQUIN, B. Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. **Theriogenology**, v.41, p.719-27, 1994.

O'MEARA, C.M.; DONOVAN, A.; HANRAHAN, J.P.; DUFFY, P.; FAIR, S.; EVANS, A.C.O.; LONERGAN, P. Resuspending ram spermatozoa in seminal plasma after cryopreservation does not improve pregnancy rate in cervically inseminated ewes. **Theriogenology**, v.67, p.1262-68, 2007.

ROBINSON, T.J. Controlled breeding of sheep and goat. In: TONES, G.J.; ROBERTSON, D.E.; LIGHT FOOT, R.L.; HARESIGN, N. (Ed.). **Sheep breeding**, Betterworths, London, p.423-37, 1979.

ROMANO, J.E.; RODAS, E.; FERREIRA, A.; LAGO, I.; BENECH, A. Effects of progestagen, PMSG and artificial insemination time on fertility and prolificacy in Corredale ewes. **Small Ruminant Research**, v.23, p.157-62, 1996.

RUBIANES, E. Nociones básicas de fisiología reproductiva em cabras y ovejas. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES. **Anais...** São Paulo-SP: FMVZ-UNESP-USP, 2000.

SMITH, P.A.; BOLAND, M.P.; GORDON, I. Effect of type of intravaginal progestagen treatment on out-come at fixed time artificial insemination. **Journal Agriculture Science**, v.96, p.243-45, 1981.

SMITH, J.F.; CRUICKSHANK, G.F.; MCGOWAN, L.T.; PAIR, J.; MORTIMER, B.J. Seasonal changes in oestrous ovulation and conception of Coopworth ewes treated with CIDRs and PMSG. **Proceedings... Society Animal Production**, v.48(2), p.99-102, 1988.

SOUZA, M.I.L.; NEVES, J.P.; LUZ, S.L.N.; GONÇALVES, P.B.D. Inseminação artificial ovina com sêmen congelado e fresco utilizando diferentes técnicas de aplicação. **Revista Brasileira de Reprodução**, v.18, p.116-23, 1994a.

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

TRALDI, A.S. Produção de ovinos. Aspectos reprodutivos dos ovinos. **Performance reprodutiva dos ovinos deslanados no Brasil**, Jaboticabal: UNESP, p.81-124, 1990.

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**, v.46, p.63-6, 2002.

WULSTR-RADCLIFFE, M.C.; WANG, S.; LEWIS, G.S. Transcervical artificial insemination in sheep: Effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rates. **Theriogenology**, v.62, p.990-1002, 2004.