

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**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 Adalgiza Gilberti

**CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
DEZEMBRO, 2006**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

**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*

Mestranda: Mariana Adalgiza Gilberti

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Duenhas Monreal

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal pelo Programa de Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – Área de concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
DEZEMBRO, 2006

MARIANA ADALGIZA GILBERTI

**Identificação do Intervalo de Tempo Fixo para o Emprego da
Inseminação Artificial Laparoscópica com Sêmen Congelado em
Ovelhas Santa Inês**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Produção Animal

Prof.^a. Dra. Aya Sasa

Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior

Prof. Dr. Antonio Carlos Duenhas Monreal

Ao meu companheiro,

sempre,

Marcelo Urt.

DEDICO!!!

AGRADECIMENTOS

A Deus e ao meu anjo protetor por estarem sempre ao meu lado.

Aos meus pais, Roberto e Célia, e a minha irmã, Ana Cibele, por todo amor, apoio, incentivo e valiosa presença em todas as realizações da minha vida.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Duenhas Monreal pela excelente orientação, pelos ensinamentos, e, acima de tudo, pela amizade sincera.

À Prof. Dra. Maria Tereza, e às queridas Vitória e Marília que sempre me receberam em sua casa como um membro da família.

A todos os professores da graduação em Medicina Veterinária, em especial aos queridos professores Dr. Charles Ferreira Martins e Marivaldo Miranda, pelo conhecimento compartilhado, estímulo e consideração.

Ao médico veterinário Naelson Júnior, pela colaboração e desprendimento dedicado à realização deste trabalho.

À equipe do Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da UNESP-Araçatuba, pela ajuda nas análises laboratoriais.

Aos estagiários Bruno Pinheiro Tedeschi, Ibrahim Cortada Neto, Rafael Augusto França pelo auxílio imprescindível à realização da pesquisa.

Aos funcionários Marcelo Alves, Cláudia C. da Silva e Hernandes Fernando da Silva, pela prontidão e pelo auxílio durante a condução do experimento e amizade.

A todos que me ajudaram, direta ou indiretamente, e por acaso não foram aqui citados.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii

“Página”

CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
Literatura Citada	9

IDENTIFICAÇÃO DO INTERVALO DE TEMPO FIXO PARA O EMPREGO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL LAPAROSCÓPICA COM SÊMEN CONGELADO EM OVELHAS SANTA INÊS	14
Introdução	14
Material e Métodos	16
Resultados e Discussão	19
Conclusão	22
Literatura Citada	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Porcentagens de gestação obtidas no exame de ultra-sonografia, realizado 45 dias após as inseminações artificiais, em Campo Grande-MS, 2006	19
Tabela 2	Porcentagem (%) de ovelhas gestantes aos 45 dias após as inseminações na ultra-sonografia e porcentagem de ovelhas paridas, em Campo Grande-MS, 2006	21

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 presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência da inseminação artificial com tempo fixo (IATF) realizada 48, 60 e 72 horas após a retirada do 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, Santa Inês.

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.

Keywords: FTAI, ovines, progesterone, Santa Inês.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Em geral, a maioria das raças de ovinos apresenta um modelo de reprodução sazonal com incidência de ciclos estrais concentrada durante o outono e inverno (Hafez, 1952; Sasa et al., 2001). Um dos principais fatores responsáveis por essa estacionalidade é o fotoperíodo, sendo que a sua influência na reprodução das fêmeas tem como interdependência a latitude, em caráter diretamente proporcional. Em latitudes mais elevadas, quando a variação da intensidade luminosa é maior, a estacionalidade reprodutiva está intimamente relacionada com o fotoperíodo, enquanto que em baixas latitudes essa relação é menos pronunciada (Chemineau et al., 1993).

O ciclo estral é o intervalo entre o início de um estro ou cio e o início do cio seguinte que, na espécie ovina, tem duração média de 16 a 17 dias (Hafez, 1987) e pode ser dividido em duas fases: folicular, na qual os folículos crescem e produzem o ovócito (2 a 3 dias) e lútea, caracterizada pela presença de um ou mais corpos lúteos (13 a 14 dias). O cio ocorre no final da fase folicular e a sua duração varia de 12 a 50 horas, ocorrendo a ovulação no final do estro (24 a 30 horas após o seu início) (Karsch et al., 1984; Pineda, 1989).

O estro varia de 20 a 36 horas, com média de 26 horas (Pineda, 1989; Lindsay, 1991; Jainudeen & Hafez, 1993). A ovulação é espontânea e ocorre no final do estro, cerca de 24 a 27 horas após o início. Ovulações duplas e triplas são comuns, e estas ocorrem dentro de 2 horas após a primeira ovulação (Lindsay, 1991).

Stenbak et al. (2001) trabalhando com inseminação artificial laparoscópica, com sêmen congelado, às 36, 48 e 60 horas após a retirada do dispositivo intravaginal, obtiveram melhores índices de concentração das ovulações nos grupos inseminados às 36 e 48 horas após a remoção do dispositivo vaginal.

Lamming & Mann (1995) descreveram que o estímulo hormonal para o estro é o estradiol, mas um período de exposição a progesterona, de 6 a 8 dias é essencial para que a

fêmea seja sensível ao estrógeno. Esses autores relacionaram a ocorrência de ovulação sem manifestação comportamental de estro no início da estação reprodutiva em ovelhas adultas e no início da puberdade, com a falta de progesterona. Assim, enfatizam que a progesterona é necessária para a expressão do comportamento estral e é fornecida pelo corpo lúteo formado na primeira ovulação silenciosa.

A utilização de progestágenos está diretamente relacionada com a duração da fase luteínica da espécie em que são aplicados, verificando-se que a administração de progesterona exógena não afeta a função de um corpo lúteo já formado. Assim, a sua administração deverá igualar ou exceder o tempo de vida de um corpo lúteo normal, 12 a 14 dias em ovelhas, que entram em cio 2 a 3 dias após a retirada do progestágeno, que podem ser administrados via vaginal, subcutânea, intramuscular ou oral (Evans e Maxwell, 1987).

O tempo de ocorrência do estro depende de fatores como a raça, idade, estação do ano, tipo de tratamento para a sua sincronização, dose de hormônios, momento de aplicação da gonadotrofina exógena, presença do rufião e condição nutricional das fêmeas (Evans & Maxwell, 1987). Com base no conhecimento da variabilidade nas respostas desejadas no controle da fase lútea, a progesterona natural ou os progestágenos são utilizados impregnados em dispositivos intravaginais contendo acetato de medroxiprogesterona – MAP ou acetato de fluorogestona – FGA, e em implantes auriculares com norgestomet – NOR (Kusakari et al., 1995; Mufti et al., 1997). As doses usuais são 50 a 60mg de MAP, 45mg de FGA e 3mg para o NOR (Armstrong et al., 1983; Baril et al., 1989; Seen & Richardson, 1992).

Os tratamentos hormonais utilizados com o objetivo de aumentar a taxa de ovulação baseiam-se na suplementação com gonadotrofinas naturais durante a fase folicular do ciclo estral, tais como o FSH ou LH (Wallace et al., 1986), o hCG (Evans e Maxwell, 1987), ou as gonadotrofinas placentárias como o eCG (Jabbour & Evans, 1991).

A combinação de progestágenos com eCG pode ser utilizada para incrementar a taxa ovulatória (Rubianes, 2000), entretanto a sua principal finalidade em programas de inseminação artificial, na contra estação ou na estação reprodutiva, é a concentração das ovulações (Armstrong et al., 1982; Dutt, 1983). Porém, esse incremento na taxa de ovulação, fica condicionado à utilização de dose igual ou superior a 500UI, segundo Armstrong et al. (1983), os quais atribuíram à possibilidade do efeito superovulatório dessa gonadotrofina a obtenção taxas de partos gêmeares acima de 30%.

A precisa sincronização do ciclo estral em ovinos ou a indução do estro em ovelhas em anestro estacional tem sido usualmente realizada com a esponja intravaginal impregnada com MAP por 12 a 14 dias, seguido de uma aplicação de gonadotrofina coriônica equina (eCG). Contudo, a fertilidade obtida para o referido tratamento nas condições de anestro tem sido muito variável, podendo atingir índices de fertilidade entre 22% e 70% (Boland et al., 1981; Smith et al., 1981). Para Romano et al. (1996), essa variação pode ser atribuída a diversos fatores, incluindo regime de tratamento, início do tratamento no estágio de anestro, manejo da ovelha, nutrição, lactação, tipo de sêmen utilizado e tempo de inseminação.

Dias et al. (1999) sincronizaram o estro de 86 ovelhas sem raça definida (SRD) no Nordeste do Brasil durante a estação reprodutiva, com esponjas vaginais impregnadas com 30mg de FGA durante 12 dias para avaliar o efeito da sua associação com o eCG em diferentes dosagens (0UI, 200UI e 400UI) sobre a fertilidade. As fêmeas foram inseminadas, com sêmen congelado, 60 horas após a retirada das esponjas e a fertilidade verificada 60 dias após as inseminações por ecografia e ao parto. Os resultados de fertilidade obtidos na ecografia foram 7,7%, 33,3% e 20%, semelhantes àqueles encontrados ao parto 7,7%, 30,1% e 20,0% respectivamente.

Os resultados obtidos por Walker et al. (1989) demonstraram que ovelhas tratadas com CIDR iniciaram a ovulação mais cedo do que ovelhas tratadas com esponjas contendo MAP ou FGA, tendo sido observados os tempos médios de 51, 69 e 63 horas respectivamente, após a retirada do dispositivo. Entretanto, Maxwell (1986) também objetivando detectar o momento da ovulação em ovelhas tratadas com CIDR e MAP, observou que as ovelhas tratadas com CIDR apresentaram ovulação 62 horas após a retirada do dispositivo vaginal e que as tratadas com MAP ovularam 67 horas após.

Ungerfeld & Rubianes (1999), avaliando a eficácia dos tratamentos hormonais de curta duração (6 dias) e longa duração (9 e 12 dias), utilizando esponjas impregnadas com MAP e eCG para sincronização do cio durante o anestro estacional, observaram que o tratamento curto (6 dias) apresentou resultado de incidência de estro, tão bom quanto os obtidos nos tratamentos de 9 e 12 dias, concluindo que o tratamento de curta duração também pode ser utilizado para indução do estro em ovelhas.

Bicudo & Sousa (2003) utilizando dois protocolos de sincronização de estro, sendo um curto (6 dias) e outro longo (12 dias), com prostaglandina e eCG, constataram existir menor taxa de dispersão da ocorrência de estro no tratamento curto, no qual observaram que 16,7% das ovelhas apresentaram estro até 30 horas após a retirada da esponja, 85% de 30 a 54 horas e 100% até 72 horas após, enquanto que, no protocolo longo, houve maior dispersão de estro, sendo que 8,5% das ovelhas manifestaram cio em até 30 horas após a retirada da esponja, 87% de 30 a 54 horas e 88,5% até 72 horas após a retirada da esponja. Concluíram que o protocolo curto apresentou-se com maior eficácia na sincronização e concentração do estro de ovelhas Suffolk, durante a estação reprodutiva, em relação ao protocolo longo.

Muñoz et al. (2002) sincronizaram 240 ovelhas da raça Corriedale, com MAP e eCG durante a estação reprodutiva e realizaram inseminação dupla por via cervical com sêmen congelado 3 e 6 horas (grupo 1), 6 e 12 horas (grupo 2) e 12 e 18 horas (grupo 3) após a detecção do estro pelo rufião, e o quarto grupo recebeu uma única inseminação 18 horas após a detecção do estro. Os valores encontrados demonstraram que não existiu diferença entre os quatro grupos, os quais apresentaram taxa de fertilidade de 22%, 31%, 22% e 21% respectivamente para os grupos 1, 2, 3 e 4.

Simonetti et al. (2000) testaram três protocolos de sincronização de estro com duração de 14 dias e diferentes concentrações de medroxiprogesterona (MAP) (40, 50 e 60mg) em 608 ovelhas da raça Merino, na estação reprodutiva, observaram que não houve diferença significativa na incidência de estro (79,27%, 77,42% e 80,87%) e nem na fertilidade (43,75%, 52,94% e 45,45%) entre os tratamentos testados.

Nesse contexto, entre os avanços tecnológicos utilizados a fim de melhorar a eficiência reprodutiva dos rebanhos ovinos, a indução e controle do estro e a inseminação artificial (Gonzalez & Oliveira, 1991) estão sendo cada vez mais empregados. Dentre os inúmeros fatores que podem influenciar na eficácia da aplicação da inseminação artificial estão o tipo de sêmen utilizado (congelado ou fresco) e o local de deposição do sêmen (vagina, cérvix ou útero) (Maxwell & Hewitt, 1986). Porém, as baixas taxas de fertilidade obtidas em ovelhas inseminadas pela técnica de inseminação cervical, com sêmen congelado, são causadas, principalmente, pelo comprometimento do espermatozóide em seu deslocamento através da cérvix, e na sua reduzida viabilidade no trato genital (Neves et al., 1996).

Dentre as técnicas atualmente utilizadas para realizar a inseminação artificial em ovinos, com sêmen congelado, a que tem apresentado os melhores índices de fertilidade é a laparoscópica com 76,8% (Killen & Caffery, 1982; Mylne et al., 1997; Salamon & Maxwell, 2000), a qual embora seja uma intervenção cirúrgica e requeira material sofisticado e mão-de-obra especializada, é a biotécnica reprodutiva que oferece os melhores resultados de concepção em ovinos devido à deposição do sêmen diretamente nos cornos uterinos (Maxwell et al., 1986), seguida da inseminação via transcervical com 59,3% (Wulster-Radcliffe & Lewis, 2002; Wulster-Radcliffe & Lewis, 2004) e por último a inseminação cervical com 42% (King et al., 2004).

Esses diferentes índices de fertilidade entre as técnicas podem existir, principalmente, devido a dois fatores: o horário da ocorrência da ovulação após a sincronização do estro (Donovan et al., 2000) e à anatomia cervical, a qual apresenta enorme dificuldade para a sua transposição, tanto pelo aplicador de sêmen como pelos espermatozóides quando depositados na cérvix (Donovan et al., 2001), os quais têm sobrevivência influenciada pela consistência do muco cervical e pelo controle endócrino da fêmea (Robinson, 1973; Pearce & Robinson, 1985), o que também influencia o transporte espermático (Hawk, 1983).

Qualquer que seja a técnica considerada, a determinação exata do momento da ovulação é crucial para o sucesso da inseminação, já que o ovócito tem uma duração de vida fértil muito curta, 12 a 24 horas (Evans e Maxwell, 1987). Assim, o objetivo maior é de que o espermatozóide atinja o oviduto no momento em que ali exista um ovócito viável. Entretanto, a opção por um determinado método de sincronização ou a utilização de cio natural, a técnica de inseminação utilizada e o tipo de sêmen aplicado (fresco ou criopreservado), influenciam a escolha do momento ótimo para a inseminação artificial e os resultados de fertilidade (Mylne et al., 1997).

O momento de ovulação tem variado dentro e entre os rebanhos de ovelhas com estro sincronizado, afetando diretamente a eficiência dos programas de inseminação artificial com tempo pré-determinado. O tempo entre a retirada do dispositivo vaginal e o início do estro é determinado pelo tipo do dispositivo e respectivo progestágeno e, também, por outros fatores como estação do ano, idade do animal, estado nutricional e fisiológico, uso ou não de eCG, entre outros (Romano et. al, 1996).

Na inseminação de ovelhas em cio natural utiliza-se, principalmente, a inseminação vaginal e na cérvix, sendo praticadas 12 a 18 horas após o início do cio, assumindo-se que o número máximo de espermatozóides pode ser encontrado no oviduto 12 a 24 horas após a inseminação (Evans e Maxwell, 1987).

Em programas de inseminação artificial com uso da sincronização, a detecção de cios é dispensável, podendo-se realizar a inseminação em tempo fixo. Assim, acredita-se que a inseminação na cérvix deve ocorrer 48 a 60 horas após remoção das esponjas, sendo que a maioria dos autores referencia como momento ótimo para a inseminação com uma única dose às 55 horas, e 48 a 60 horas quando se utiliza inseminação dupla (Buckrell et al., 1994), e a inseminação artificial laparoscópica, deve ocorrer segundo Moses et al. (1997) 60 horas após a retirada da esponja.

A raça é um fator que influencia diretamente a determinação do melhor horário para a inseminação, existindo grande variabilidade entre elas, podendo estar entre 54 a 60 horas após a retirada do dispositivo intravaginal em ovelhas Leicester x Swaledale (Findlater et. al, 1991), 60 a 72 horas em ovelhas Merino (Eppleston & Roberts, 1986; Maxwell, 1986), 48 horas para Suffolk (Fukui et. al, 1989; Findlater et. al, 1991) e entre 54 a 58 horas para Border Leicester x Scottish Blackface (Aitken et. al, 1990).

Para Bodin et al. (1997) a utilização repetida de tratamentos de sincronização, com esponjas de FGA e eCG, pode originar a produção de anticorpos anti-eCG, alterando o momento da onda pré-ovulatória de LH e, conseqüentemente, o momento da ovulação. Assim, a inseminação efetuada às 55 horas pode, nessa situação, não respeitar os tempos mínimos para a fertilização, levando às baixas taxas de fertilidade e prolificidade.

Robinson et al. (1989) observaram taxas de fertilidade de zero, 85 e 100% em ovelhas tratadas com eCG e inseminadas por laparoscopia, 36, 48 e 60 horas, com sêmen resfriado, respectivamente, após a retirada da esponja intravaginal. Em um segundo experimento, os mesmos autores encontraram 93 e 99,6% de fertilidade em ovelhas inseminadas 48 e 60 horas com sêmen resfriado, respectivamente, após a retirada do dispositivo intravaginal. Entretanto, em comparação aos dois horários de inseminação, 48 e 60 horas, Scudamore et al. (1991), observaram redução da fertilidade e da sobrevivência dos embriões nas ovelhas inseminadas às 60 horas.

Jabbour e Evans (1991) obtiveram taxas de fertilização na ordem de 60, 94 e 88%, respectivamente, utilizando inseminação laparoscópica, com sêmen resfriado, 24, 44 e 64 horas após a remoção do progestágeno em ovelhas superovuladas com uma combinação de MAP e eCG; os valores correspondentes com a inseminação foram 46, 98 e 26%, sendo o baixo valor obtido na última inseminação atribuído à redução da habilidade do espermatozóide congelado/descongelado em transpor a junção útero-tubal naquele horário.

A inseminação intrauterina por laparoscopia com sêmen congelado deve ser efetuada entre 60 e 66 horas após a remoção do progestágeno. Já em fêmeas superovuladas, o intervalo entre a remoção do progestágeno e a inseminação deve ser de 36 a 48 horas, para sêmen fresco, e de 44 a 48 horas para sêmen congelado (Evans e Maxwell, 1987). Os mesmos autores sugerem que a inseminação artificial transcervical com tempo pré-determinado e sêmen congelado deve ser realizada dentro de 48 a 58 horas após a remoção da esponja, podendo ser única ao redor das 55 horas. Em alguns relatos, é descrito que a IA com tempo pré-determinado com sêmen refrigerado produz melhores resultados às 60 horas do que às 48 horas (Romano et al., 1996).

Sousa (2002) optou pela inseminação com tempo pré-fixado e sêmen resfriado 56 horas após a retirada da esponja vaginal, e suspeitou que o momento preconizado para as inseminações artificiais não tenha sido ideal, pois os índices alcançados foram 41,9% com sêmen fresco e 21,5% com sêmen refrigerado.

Entretanto, Moses et al. (1997) trabalhando com ovelhas sincronizadas com esponjas impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (60mg) por 14 dias associada a 200UI de eCG, observaram que a inseminação laparoscópica com sêmen congelado pode ser empregada em larga escala com sucesso, sem a necessidade de detecção de estro, se forem realizadas 60 horas após a remoção da esponja intravaginal.

Takada et al. (2003) estudando o momento ovulatório através de ultra-sonografia durante a pré-estação reprodutiva na região de Botucatu em 12 ovelhas da raça Suffolk, utilizando sincronização com MAP + eCG, constataram que 100% das ovelhas ovularam entre 50 e 67 horas. Entretanto, Walker et al. (1986) encontraram aproximadamente 79% das ovulações ocorrendo às 54 horas após a remoção do progestágeno e aproximadamente 20% das ovulações 66 horas após.

Para ovelhas Merino, tratadas com FSH, Evans et al. (1984) observaram que as inseminações realizadas 54 e 60 horas após a retirada da esponja com progestágeno ou aplicação de prostaglandina resultam na redução nos índices de fertilidade, quando comparadas com as inseminações realizadas 48 horas após. Maxwell (1986) observou melhores índices de fertilidade para ovelhas dessa raça quando as inseminações ocorreram entre 48 e 62 horas após a retirada do progestágeno e não 78 horas após, observando a ocorrência de alto percentual de ovelhas paridas e cordeiros por ovelha nos grupos inseminados 48, 62 e 72 horas quando comparado com àquele inseminado às 78 horas. Entretanto, Eppleston e Roberts (1986) sugeriram que o tipo de tratamento hormonal utilizado para sincronização da ovulação, e não o momento da IA, é o fator que mais influencia os índices de parição em ovelhas Merino.

Gonzalez et al. (2006) objetivando verificar a influência do horário da inseminação por laparoscopia sobre a taxa de prenhez, em ovelhas da raça Santa Inês, no semi-árido paraibano, utilizaram 33 ovelhas, das quais 15 (grupo 1) foram inseminadas 53 horas após a retirada do dispositivo intravaginal e 18 (grupo 2) 25 horas após a detecção de cio pelo rufião. Obtiveram taxa de prenhez de 20% (3/15) para o grupo 1, porém duas ovelhas abortaram e uma pariu, e 50% (9/18) para o grupo 2, onde todas as ovelhas que estavam gestantes, pariram.

LITERATURA CITADA

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*, n. 50, p. 379-382, 1990.

ARMSTRONG, D.T., PFITZNER, A.P., PORTER, K.J. et al. Ovarian response of anoestrus goats to simulation with pregnant mare serum gonadotrophin. *Anim. Reprod. Sci.*, n. 5, p.15-23, 1982.

ARMSTRONG, D.T., PFITZNER, A.P., WARNES, G.M. et al. Endocrine responses of goats after induction of superovulation with PMSG and FSH. *J. Reprod. Fertl.*, n. 64, p. 345-347, 1983.

BARIL, B.; CASAMITJANA, P.; PERRIN, J. et al. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. *Zuchthyg.*, n. 24, p. 101-115, 1989.

BICUDO, S.D.; SOUZA, D.B. Associação de progestágeno, prostaglandina e eCG em protocolo de curta duração para indução/sincronização do estro em ovelhas Suffolk. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL*, 15, 2003. Porto Seguro-BA. Anais. Belo Horizonte-MG: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2003.

BODIN, L., ANIO, A. Use of artificial insemination in sheep production and genetics. *In: 48th Annual Meeting of the European Association for Animal Production*, 25-28 August. Vienna, Austria, 1997.

BOLAND, M.P.; CROSBY, T.F.; GORDON, I. Induction of pregnancy in lactating anoestrus ewes. *J. Agric. Sci.*, n. 97, p. 465-467, 1981.

BUCKRELL, B.C.; BUSCHBECK, C.; GARTLEY, C.J. et al. Further development of a trans-cervix technique for artificial insemination in sheep using previously frozen semen. *Theriogenology*, n. 42, p. 601-611, 1994.

CHEMINEAU, P.; BERTHELOT, X.; et al. Lamaitrise de la reproduction par la photopériode et la mélatonine chez les mammifères d'élevage. *Cashiers Agriculture*, n. 2, p. 81-92, 1993.

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*, 5, 1999, Recife. **Anais**. Recife, 1999. 320- 321 (Resumo).

DONOVAN, A., HANRAHAN, J.P., DUFFY, P. et al. AI in sheep: breed differences in timing of ovulation. *J. Agric. Food Res.*, n. 39, p. 3, 2000.

DONOVAN, A., HANRAHAN, J.P., LALLY, T. et al. AI for sheep using frozen-thawed semen. *In: End of Project Report: Sheep Series n^o. 11, 2001. ISBN: 1 84170 152 1.*

DUTT, R.H. Induction of estrus and ovulation in ewes by use of progesterone and pregnant mare serum. *J. Anim. Sci.*, n. 27, p. 161-168, 1983.

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.

EVANS, G., HOLLAND, M.K., NOTTLE, H.B. et al. Production of embryos in sheep using FSH preparations and laparoscopic intrauterine insemination. *In: Lindsay, D.R., Pearce, D.T. Reproduction in Sheep. Canberra: Australian Academy of Science and Australian Wool Corporation, 313-315, 1984.*

EVANS, G., MAXWELL, W.M.C. Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Butterworths, 1987, 194p.

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.; 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.

GONZALEZ, C.I.M., OLIVEIRA, V.S. Técnicas para incrementar a eficiência reprodutiva de caprinos e ovinos. *In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA/CAPRINOCULTURA E OVINOCULTURA, 23, 1991, João Pessoa. Anais. João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1991 (Resumo).*

GONZALEZ, C.I.M., SILVA, G.A., SOARES, A.T. Influência do horário da inseminação por laparoscopia sobre a taxa de prenhez em ovelhas da raça Santa Inês no semi-árido paraibano. *In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2006, João Pessoa. Anais. João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (Resumo).*

HAFEZ, E.S.E. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *Journal of Agricultural Science*, n. 42, p. 189-265, 1952.

HAFEZ, E.S.E. *Reproduction in farm animals. Philadelphia, Lea & Febiger, 1987.*

HAWK, H.W. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. *J. Dairy Sci.*, n. 66, p. 2645-2660, 1983.

JABBOUR, H.N.; EVANS, G. Fertility of superovulated ewes following intrauterine or oviducal insemination with fresh or frozen-thawed semen. *Reprod. Fertil. Dev.*, n. 3, p. 1-7, 1991.

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

KARSCH, F.J.; BITTMAN, E.L.; FOSTER, D.L., et al. Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Prog. Horm. Res.*, n. 40, p. 185-232, 1984.

KILLEN, I.D., CAFFERY, G.J. Uterine insemination of ewes with aid of a laparoscope. *Austr. Vet. J.*, n. 5, p. 95, 1982.

KING, M. McKELVEY, W., DINGWALL, W. et al. Lambing rates and litter sizes following intrauterine insemination of frozen /thawed semen with or without oxytocin administration. *Theriogenology*, n. 62, p. 1236-1244, 2004.

KUSAKARI, N., OHARA, M., MORI, Y. Seasonal variation in the timing of estrus behavior, LH surge and ovulation following the treatment with progesterone and PMSG in Suffolk ewes. *J. Reprod. Dev.*, n. 41, p. 212-249, 1995.

LAMMING, G.E., MANN, G.E. Control of endometrial oxytocin receptor and prostaglandin production in cows by progesterone and oestradiol. *Journal of Reproduction and Fertility*, n. 103, p. 69-73, 1995.

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

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.

MAXWELL, W.M.C., HEWITT, L.J. A comparison of vaginal, cervical and intra-uterine insemination of sheep. *J. Agric. Sci. Camb.*, n. 106, p.191-193, 1986.

MOSES, D.; MARTÍNEZ, A.G.; IÓRIO, 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.

MUFTI, A.M., WANI, G.M., WANI, N.A. et al. Superovulatory response in Corriedale sheep during different months of the breeding season. *Small Rumin. Res.*, n. 25, p.181-184, 1997.

MUNOZ, M.C., PARRAGUEZ, G. Victor H., LATORRE, V. Etel. Efecto del tiempo de inseminación artificial después de la detección de cole sobre la tasa de preñez en ovinos corriedale. *Agric. Téc.*, n. 62, p. 616-623, 2002.

MYLNE, M.J.A., HUNTON, J.R. e BUCKRELL, B.C. Artificial Insemination of Sheep. *In: Current Therapy in Large Animal*. *Theriogenology*, p. 585-594, 1997.

NEVES, J.P., LUZ, S.L.N., GONÇALVES, P.B.D. et al. Biotecnologia da reprodução em ovinos: inseminação artificial. *In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA/CAPRINOCULTURA E OVINOCULTURA*, 23, 1996, João Pessoa. **Anais**. João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996 (Resumo).

PEARCE, D.T., ROBINSON, T.J. Plasma progesterone concentrations, ovarian and endocrinological response and sperm transport in ewes with synchronized oestrus. *J. Reprod. Fertil.*, n. 75, p. 49-62, 1985.

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

ROBINSON, T.J. Factors involved in the failure of sperm transport and survival in the female reproductive tract. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, n. 18, p. 103-109, 1973.

ROBINSON, J.J., WALLACE, J.M., AITKEN, R.P. Fertilization and ovum recovery rates in superovulated ewes following cervical insemination or laparoscopic intrauterine insemination at different times after progestagen withdrawal and in one or both uterine horns. *J. Reprod. Fertil.*, n. 87, p. 771-782, 1989.

ROMANO, J.E.; RODAS, E.; FERREIRA, A. et al. Effects of progestagen, ECG and artificial insemination time on fertility and prolificacy in Corriedale ewes. *Small Rumin. Res.*, n. 23, p. 157-162, 1996.

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

SALAMON, S., MAXWELL, W.M.C. Storage of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.*, n. 62, p. 77-111, 2000.

SASA, A., TESTON, D.C., SILVA, E.C.F. et al. Perfil plasmático de progesterona e incidência mensal de ovulações silenciosas em borregas lanadas e deslanadas criadas no Estado de São Paulo. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA – ZOOTEC*, 11., Goiânia, 2001. **Anais**. Goiânia: ZOOTEC, 2001.

SCUDAMORE, C.L.; ROBINSON, J.J.; AITKEN, R.P. The effect of timing of laparoscopic insemination in superovulated ewes, with or without sedation, on the recovery of embryos, their stage of development and subsequent viability. *Theriogenology*, n. 35, p. 907-914, 1991.

SENN, B.J., RICHARDSON, M.E. Seasonal effects on caprine response to synchronization of estrus and superovulatory treatment. *Theriogenology*, v. 37, n.3, p. 679-585, 1992.

SIMONETTI, L.; BLANCO, M.R.; GARDÓN, J.C. Estrus synchronization in ewes treated with sponges impregnated with different doses of medroxyprogesterone acetate. *Small Ruminant Research*, n. 38, p. 243-247, 2000.

SMITH, P.A., BOLAND, M.P., GORDON, I. Effect of dose of Cronolone in intravaginal sponges on lambing outcome to fixed-time A.I. *J. Agric. Sci. Cambridge*, n. 96, p. 253-254, 1981.

SOUZA, D.B. Viabilidade do sistema Equitainer[®] na refrigeração do sêmen ovino avaliado pelas análises computadorizadas, de microscopia epifluorescente e inseminação artificial. Botucatu, 2002. 103p. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista-UNESP.

STENBAK, T.K., REDMER, D.A. BERGINSKI, H.R., et al. Effects of follicle stimulating hormone (FSH) on follicular development, oocyte retrieval, and in vitro fertilization (IVF) in ewes during breeding season and seasonal anestrous. *Theriogenology*, n. 56, p. 51-64, 2001.

TAKADA, L.; BICUDO, S.D.; RODRIGUES, C.F.C.; LENTZ, F.F.; BIANCHINI, D. Avaliação dos momentos do início do estro e da ovulação em ovelhas Suffolk submetidas a protocolo de curta duração para a sincronização do estro na pré-estação reprodutiva. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL*, 15, 2003. Porto Seguro-BA. **Anais**. Belo Horizonte-MG: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2003.

UNGERFELD, R., RUBIANES, E. Effectiveness of short-term progestagen primings for the induction of fertile estrus with eCG in ewes during late seasonal anestrous. *Anim. Sci.*, n. 68, p. 349-353, 1999.

WALKER, S.K., SMITH, D.H., SEAMARK, R.F. Timing of multiple ovulations in the ewe after treatment with FSH or PMSG with and without GnRH. *J. Reprod. Fertil.*, n. 77, p. 135-142, 1986.

WALKER, S.K., SMITH, D.H., GODFREY, B. et al. Time of ovulation in the south australian merino ewe following synchronization of estrus. 1. Variation within and between flocks. *Theriogenology*, n. 31, p. 545-553, 1989.

WALLACE, J.M., MCNEILLY, A.S. E BAIRD, D.T. Induction of ovulation during anoestrus in two breeds of sheep with multiple injections of LH alone or in combination with FSH. *J. Endocr. III*, p. 181-190, 1986.

WULSTER-RADCLIFFE, M.C., LEWIS, G.S. Development of a new transcervical artificial insemination meyhod for sheep: effects of a new transcervical artificial insemination catheter and traversing the cervix on semen quality and fertility. *Theriogenology*, n. 58, p. 1361-1371, 2002.

WULSTER-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*, n. 62, p. 990-1002, 2004.

IDENTIFICAÇÃO DO INTERVALO DE TEMPO FIXO PARA O EMPREGO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL LAPAROSCÓPICA COM SÊMEN CONGELADO EM OVELHAS SANTA INÊS

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, 2005).

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 estreitamente 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:

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

MATERIAL E MÉTODOS

Local e Grupos Experimentais

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 idades variando entre 18 e 24 meses, primíparas, com peso corporal de $50 \pm 4,5$ 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, 48 horas (Grupo I), 60 horas (Grupo II) e 72 horas (Grupo III) após a retirada do dispositivo intravaginal.

Sincronização de Estro

Foi utilizado um protocolo de sincronização do estro de 9 dias, empregando-se o dispositivo intravaginal Eazi-Breed CIDR[®] (Pfizer) impregnado com 0,33g de progesterona natural, o qual permaneceu inserido por 9 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.

Inseminação Laparoscópica

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 (Rompum[®] - 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 introduzam-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.

Diagnóstico de Gestação

As ovelhas, em posição de estação, foram examinadas por meio de ultra-som (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.

Manejo Nutricional

O manejo nutricional iniciou-se 30 dias antes ao começo do experimento, com administração de *flushing* alimentar, composto de suplementação concentrada energética 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 *Brachiária brizantha* cv. MG-4, onde, a cada cinco dias, fez-se a rotação do pastejo. Água e sal mineral foram consumidos “*ad libidum*”. Os animais foram acompanhados por médico veterinário durante todo o período experimental.

Análise Estatística

A dosagem inicial de progesterona dos diversos grupos foi submetida a uma análise de variância com um fator. Na comparação das dosagens de progesterona dos três grupos no momento da IA também aplicou-se uma análise de variância com um fator. Na comparação dos grupos segundo os índices de prenhez usou-se um teste *qui-quadrado*. Na comparação das médias de progesterona entre as ovelhas gestantes e não gestantes de cada um dos grupos estudados utilizou-se o teste *t-Student*.

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 48 e 60h, diferenciando, porém nos índices de parição, que foram inferiores.

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

Table 1. Pregnancy rates achieved 45 days after artificial insemination in Santa Inês ewes, as revealed by ultrasound examination. Campo Grande, MS, Brazil, 2006.

Grupos IATF <i>Experimental groups</i> (hours from CIDR removal to FTAI)	Índice de Gestação (%) <i>Pregnancy rates (%)</i>
G I (48 horas)	42,9 ^{a,b}
G II (60 horas)	57,1 ^b
G III (72 horas)	21,4 ^a

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

Values followed by different letters on the same column differ significantly ($p < 0.05$).

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 e Barnes, 1986; Maxwell, 1986; Epplston e 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 e 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 e 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 às perdas embrionárias os resultados obtidos neste trabalho, provavelmente devido 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 utiliza-se 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. A estação reprodutiva foi quente e 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. Porcentagem (%) de ovelhas gestantes aos 45 dias após as inseminações na ultrasonografia e porcentagem de ovelhas paridas, em Campo Grande-MS, 2006.

Table 2. Percentages of pregnant Santa Inês ewes 45 days after artificial insemination, as revealed by ultrasound examination, and percentages of lambing ewes. Campo Grande, MS, Brazil, 2006.

Grupos IATF <i>Experimental groups</i> <i>(hours from CIDR removal to FTAI)</i>	Animais (n) <i>Animals</i> <i>(n.)</i>	Gestantes (45 dias) (%) <i>Pregnant (45 days)</i>	Paridas (%) <i>Lambing</i>
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 ($p < 0,05$).

Values followed by different letters on the same column differ significantly ($p < 0.05$).

CONCLUSÃO

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.

LITERATURA CITADA

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, 2005.

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*, 37, 2000, Viçosa. Anais... Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 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 Nordeste de Caprino-Ovinocultura*, 5, 1999, Recife. Anais. Recife, 1999. 320-321 (Resumo).

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. (Circular Técnica, 01).

FINDLATER, R.C.F.; HAREIGN, W.; CURNOCK, R.M. E 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.; 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. et al. 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. E 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*, 33, 1996, Fortaleza: Anais... Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 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*, 5, 1984, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte, 1984, p.402. (Resumo).

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.; IÓRIO, 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, p. 79-97, 1994.

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. Assesment 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, BL., LEWIS, G.S. Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopic or transcervix intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes. *Theriogenology*, n. 48, p. 267-275, 1997.

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