

**SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E SUPEROVULAÇÃO
EM OVINOS E CAPRINOS**

Jeferson Ferreira da Fonseca ^{1*}

Joanna Maria Gonçalves de Souza ²

José Henrique Bruschi ³

1. INTRODUÇÃO

A criação de ovinos e caprinos apresenta características importantes que têm potencializado sua expansão. São animais que se adaptam a vários sistemas de produção, desde os familiares e extensivos aos mais sofisticados e intensivos. Têm ciclo produtivo e reprodutivo relativamente curtos, com animais podendo ser abatidos a partir dos três meses de idade. Adicionalmente, machos e fêmeas podem ser acasalados aos seis meses. O período de gestação de cinco meses, aliado a um curto puerpério tornam ainda mais dinâmicos os sistemas de criação destes animais. A elevada prolificidade garante produção adicional de filhotes ao longo da vida reprodutiva das fêmeas. Todavia, estes animais são conhecidos por sua estacionalidade reprodutiva, ou seja, animais que se reproduzem em período de tempo definido durante o ano, a estação de acasalamento natural ou estação reprodutiva. Cabras e ovelhas apresentam três ou mais estros durante a estação de acasalamento, até que fiquem gestantes, com expectativa de terem um parto por ano.

A possibilidade de se manipular a reprodução de caprinos e ovinos abre oportunidades interessantes para a maximização da exploração destes animais e uso de tecnologias que, inclusive, podem permitir a identificação e multiplicação de genótipos superiores. O objetivo desta revisão foi apresentar os princípios das técnicas de sincronização de estro e superovulação e como podem ser implantadas em sistemas de produção

¹ Médico Veterinário, Pesquisador Embrapa Caprinos, Sobral – CE

² Estudante de Medicina Veterinária, Bolsista Embrapa Caprinos, Sobral – CE

³ Médico Veterinário, Pesquisador Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora – MG

* jeferson@cnp.embrapa.br

de pequenos ruminantes ou para a multiplicação acelerada de animais com características desejáveis.

2. SINCRONIZAÇÃO E INDUÇÃO DO ESTRO E DA OVULAÇÃO

Por razões fisiológicas (inerentes às espécies ovina e caprina), comerciais, técnicas ou mesmo de manejo, a sincronização e/ou indução de estro podem ser justificadas. Cabras e ovelhas são poliéstricas estacionais de dia curto ou contínuas. Isto significa que os estros estarão concentrados em um período de tempo definido durante o ano, onde o fotoperíodo (numero de horas de luz por dia) é menor, a estação de acasalamento natural. A duração desta estação é definida primariamente pela latitude e secundariamente pela raça. Assim, quanto mais longe da linha do Equador, esta estacionalidade reprodutiva tende a ser mais evidente. Neste caso, as ovelhas devem apresentar um parto por ano. Entretanto, em latitudes mais baixas, a estacionalidade reprodutiva tende a diminuir ou mesmo cessar. Nestas condições, os ovinos tendem a ser poliéstricos contínuos, desde que condições nutricionais estejam adequadas. Mas isto nem sempre é possível, em função da disponibilidade estacional de alimentos.

Basicamente, estas biotecnologias podem ser implantadas durante a estação de acasalamento natural ou de anestro e transição. Seu uso apresenta vantagens e desvantagens.

Vantagens:

- Uso maximizado de reprodutores quando associadas à monta dirigida (mais coberturas por unidade de tempo); sincronização de partos, o que facilita o manejo sanitário e nutricional, além de permitir lotes homogêneos de cria e recria; programação de acasalamentos (férias, final de semana);
- Uso eficiente de inseminação artificial, transferência de embriões e técnicos; parição no outono/inverno (carne e leite de entressafra);

- Diminuição do intervalo de partos, aumentando o número de partos durante a vida produtiva do animal;
- Escrituração zootécnica.

Desvantagens:

- Exigência de treinamento específico; manipulação e administração de drogas;
- Transmissão de doenças entre os animais e para o homem se não forem utilizados materiais descartáveis (seringas, agulhas), luvas e equipamentos esterilizados (espéculos, aplicadores de dispositivos);
- Custo relativo de todo o material utilizado.

Para se entender os princípios e aplicabilidade da sincronização / indução de estro, é preciso, primeiramente, considerar o sistema de produção em questão. Noções de custo de animais vazios (dias abertos) muitas vezes são negligenciadas. Todavia, este ponto é fundamental, uma vez que o uso desta ou daquela técnica pode resultar em animais gestantes mais precoce ou tardiamente. Também é necessário conceituar e diferenciar sincronização e indução de estro, técnicas que, por vezes, sobrepõem-se.

A sincronização de estro refere-se à concentração de animais em estro em intervalo de tempo restrito (24 a 72 horas) durante a estação de acasalamento. Note-se que durante a estação de acasalamento natural, os animais estão fisiologicamente aptos à manifestação de estros férteis. Por outro lado, durante estação de anestro e transição, o estro pode ser manifestado por meio técnicas que utilizam manipulações hormonais, programas de luz artificial e efeito macho (retirada do macho do rebanho e apresentação 60 dias depois). Estas técnicas podem de forma isolada ou em associação induzirem a manifestação de estro que poderá ser ou não de forma sincronizada (Fig. 1).

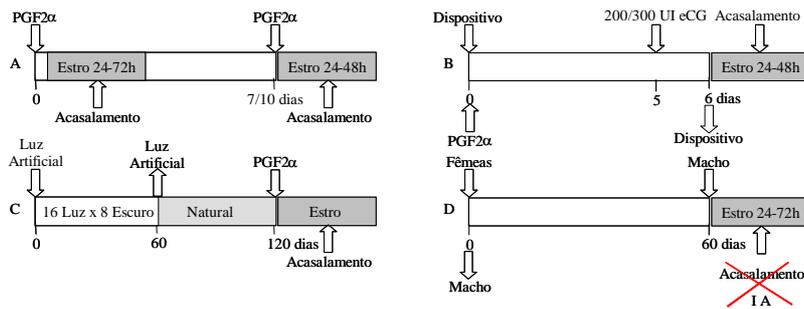


Figura 1. Programas de sincronização de estro com prostaglandinas (A) e indução de estro com hormônios (B), luz artificial (16 horas de luz X 8 horas escuro; C) e efeito macho (D). Explicação no texto. Adaptado de Fonseca (2005).

2.1. Prostaglandinas

Durante a estação de acasalamento, a sincronização de estro pode ser eficientemente alcançada com o uso de prostaglandinas em dose única ou duas doses intervaladas de 7 dias (Fig. 1 A). O encurtamento deste intervalo de 10 para 7 dias tem apresentado melhores resultados, sobretudo por permitir maior sincronia de ovulações, abrindo a possibilidade de inseminação artificial (IA) em tempo fixo (IATF). Isto é possível porque a segunda dose de prostaglandina (PGF2α) é administrada entre o terceiro e quinto dia do ciclo estral. Neste período, os folículos dominantes da primeira onda folicular ainda estão em fase de crescimento e os corpos lúteos já estão responsivos à ação da prostaglandina (Menchaca e Rubianes, 2004). No caso de duas aplicações, a utilização ou não do estro após a primeira aplicação é facultativa, mas o segundo estro (após segunda prostaglandina) ocorre em maior percentual de animais (Fonseca, 2002) e de forma mais sincrônica, inclusive com sincronia ovulatória (Menchaca e Rubianes, 2004). A associação de prostaglandina e dispositivos intravaginais contendo progestágenos ou progesterona é outra possibilidade. Em ambos os casos a adição de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) ou humana (hCG) pode ser dispensada, e taxas de concepção são superiores a 60% (Fonseca et al., 2004; Fonseca et al. 2007).

2.2. Coquetéis hormonais

Fora da estação de acasalamento, há necessidade de se induzir o estro com o uso de gonadotrofinas (Fig. 1 B). Isto tem grande impacto sobre a exploração de animais que apresentam estacionalidade reprodutiva. Em ovinos, a indução de estro pode ser eficientemente obtida por meio da utilização de progestágenos, em associação com gonadotrofinas e prostaglandinas. A eCG é a gonadotrofina mais utilizada (Gordon, 1997). A hCG também pode ser utilizada com sucesso (Fonseca et al., 2004), principalmente naqueles animais submetidos a repetidas induções e que apresentam altos títulos de anticorpos anti-eCG (Baril et al., 1992; Baril et al., 1996). Protocolos de seis dias utilizando progestágeno têm demonstrado elevada eficiência, tanto com relação ao percentual de animais em estro, quanto com relação à sincronia e fertilidade (Souza et al., 2007)

Existem vários protocolos de indução de estro que utilizam variações na dose, duração, no tipo e na via de administração de progestágenos, no momento de aplicação de gonadotrofinas e uso ou não de prostaglandinas. O desenvolvimento folicular é, portanto, manipulado e/ou alterado com o uso de gonadotrofinas e progestágenos exógenos. Isto altera o número e o tempo de persistência dos folículos em desenvolvimento. Com a introdução do acompanhamento ultra-sonográfico da dinâmica folicular ovariana em pequenos ruminantes, evidenciou-se que a ovulação de folículos envelhecidos não é desejável e compromete a fertilidade, fazendo com que protocolos de curta duração sejam mais eficientes que os de longa duração (Viñoles et al., 2001). Todavia, protocolos ditos de “longa duração”, que levam em consideração a duração do ciclo estral, com permanência de dispositivos por 12 a 13 dias e administração de eCG, no momento da retirada do dispositivo têm reportado fertilidade em torno de 65% após inseminações com sêmen congelado/descongelado 48 a 60 horas após retirada do dispositivo (Findlater et al., 1991; Gordon, 1997).

Mais comumente, são utilizados dispositivos intravaginais de liberação lenta de progesterona (P4; Souza et al., 2007), esponjas impregnadas com acetato de fluorogesterona (FGA; Gómez et al., 2006) ou acetato de medroxiprogesterona (MAP; Fonseca, 2002; Fonseca et al., 2004), implantes auriculares de norgestomet (Gordon, 1997), ou, ainda, administrações orais diárias de melengestrol (Safranski et al., 1992). Gonadotrofinas e prostaglandinas são administradas 24 a 48 horas antes ou no momento da retirada do dispositivo. Protocolos com longa permanência dos dispositivos (acima de 12 dias) têm dispensado o uso de prostaglandina. Todos têm apresentado elevados índices de animais em estro após a retirada do progestágeno, e taxas de gestação que variam de 30 a 80% com acasalamento natural ou inseminação artificial.

Em função do grande percentual de animais em estro nas primeiras 36 horas, recomenda-se uma relação macho:fêmea não superior a 1:8, associada a intervalos de três dias entre lotes de indução sucessiva de estro (Fonseca e Bruschi, 2005).

O uso de prostaglandina (i.e. dinoprost, cloprostenol) é importante para garantir a lise do corpo lúteo, garantindo elevado número de animais que entram estro precocemente após a retirada do progestágeno (Fonseca, 2002; Souza et al., 2007). A via de administração de prostaglandinas é outro aspecto importante. Por alcançar maior eficiência, a via intravulvosubmucosa tem sido preferida (Mellado et al., 1994). Outrossim, a higienização da região peri-vulvar é mais eficiente, sobretudo em raças lanadas, diminuindo riscos de contaminação.

2.3. Luz Artificial

O estro também pode ser induzido em caprinos (Rodrigues et al., 1994) e ovinos por meio de programas de luz artificial. Neste caso, as fêmeas são submetidas a 16 horas de luz e oito horas de escuro (de 20:00 as 04:00). O programa tem duração de 60 dias e os animais manifestam estro cerca de 60 dias após o final do programa (Fig. 1 C; Neves et al., 1997). Machos também devem ser submetidos ao programa e não há sincronia entre fêmeas em estro (Gordon 1997).

2.4. Efeito Macho

O efeito macho consiste no afastamento de machos do rebanho por 60 dias, quando são re-introduzidos e induzem alto percentual de estro nas fêmeas em 72 horas (Fig 1 D). Sua aplicação é mais eficiente na estação de transição e pode ser associada com o uso de luz artificial (Sasa et al., 2004) e indução hormonal de estro (Rajamahendran et al., 1993) para sincronizar os estros. Fêmeas expostas continuamente a machos estéreis durante a estação de anestro restabelecem sua atividade reprodutiva mais tardiamente que fêmeas isoladas dos machos durante o anestro (Schinckel, 1954). Por outro lado, a associação do efeito macho com protocolos tradicionais de indução de estro (progestágenos) diminui intervalo da retirada do dispositivo ao estro, elevando a sincronia de animais que entram em estro nas primeiras 48 horas após a retirada do dispositivo (Ungerfeld e Rubianes, 1999).

O efeito macho é utilizado de forma eficiente em estações de acasalamento restritas a intervalos pequenos e durante todo o ano em sistemas de produção situados em baixas latitudes. Todavia, conforme descrito anteriormente, deve se tomar cuidado com o primeiro estro (baixa fertilidade). Desta forma, recomenda-se à introdução de um macho estéril (rufião) uma a duas semanas antes da introdução de machos férteis (Simplício et al., 2001). No primeiro estro, pode não ocorrer ovulação, ovulação de folículos velhos, que podem produzir tanto gametas (oócitos), quanto corpos lúteos deficientes. A falha luteal leva ao aparecimento de ciclos curtos. A falha ovulatória implica em impossibilidade de fertilização (Lassoued et al., 1995; Lassoued et al., 1997). Oócitos velhos podem ter reduzido potencial de fertilização e se fertilizados podem não ser capazes de se desenvolver adequadamente, inviabilizando a implantação ou gestação – morte embrionária precoce. Tanto em ovinos como em caprinos, os ciclos estrais curtos foram evitados com a administração de 20 mg de progesterona no momento a introdução do macho (Lassoued et al., 1995). Mesmo assim, em função

das outras razões supracitadas que podem comprometer a fertilidade, a inseminação artificial no primeiro estro pós-programa de luz e/ou efeito macho não é recomendada (Fonseca, 2006 a).

2.5. Melatonina

Implantes de melatonina também são utilizados para a indução de estro em ovinos e caprinos (Zúñiga et al., 2002). Normalmente, esta técnica é utilizada próxima à estação de acasalamento natural, antecipando-a (Gordon, 1997). Todavia, podem ser utilizados no final da estação de acasalamento ou início da estação de anestro. Nestas últimas condições, ovelhas submetidas a implantes de melatonina por 40 dias associadas a efeito macho (apresentação do macho no momento da retirada do implante), apresentaram taxa de concepção de 78%. Taxa de concepção idêntica (78%) foi apresentada por ovelhas tratadas por 12 dias com esponja de 30 mg fluorogestona e 450 UI eCG no momento da retirada. Cabras leiteiras quanto submetidas a implantes de melatonina apresentaram taxa de partos semelhantes a cabras submetidas à indução hormonal de estro (81 vs 84%; Mazorra et al., 2001). Implantes de melatonina são amplamente utilizados em Países Europeus, como a Espanha (Gómez et al., 2006).

2.5. Ovulação

A ovulação em ovelhas ocorre normalmente ao redor do final do estro. Entretanto, a exemplo da sincronização de estro (Gordon, 1997), torna-se muito desejável a sincronia de ovulação entre ovelhas. Isto se torna evidente quando do emprego da inseminação artificial e, mais ainda, quanto esta é realizada em tempo fixo (Fonseca, 2006 a).

Normalmente, ao promover a sincronização de estro, tem-se uma boa sincronia ovulatória. Em ovelhas da raça Merino, a administração de GnRH 36 horas após a retirada antecipou a ovulação ($48,0 \pm 2,8$ vs $52,8 \pm 3,8$ h) quando comparado às ovelhas controle ($52,2 \pm 5,7$ vs $57,0 \pm 4,2$ h após a retirada da esponja) durante as estações de anestro e de acasalamento, respectivamente (Reyna et al., 2005). Cavalcanti et al.

(2006 a,b) submeteram ovelhas Santa Inês e mestiças Santa Inês / Dorper à indução de estro sincronizado com seis dias de progestágeno (60mg MAP) e administração de prostaglandina e eCG 24 horas antes da retirada da esponja. Tanto a sincronia ovulatória ($50,1 \pm 5,6$ vs $48,3 \pm 6,2$ h) quanto a taxa de gestação foram idênticas (50 % vs 44%) para animais que receberam solução salina e GnRH 24 horas após a retirada da esponja, respectivamente. Nestes estudos, as taxas de gestação foram 52 e 38 % para a monta natural e inseminação por laparoscopia (IATF 55 h), respectivamente. A associação de GnRH no momento da inseminação artificial (IATF 42 h após segunda dose de prostaglandina) ao protocolo apresentado na Figura 1 A diminuiu a taxa de gestação em ovelhas da raça Corriedale tratadas (37%) quando comparado com não-tratadas (49 %; Gil et al., 2004).

3. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

A transferência de embriões tem se popularizado, sendo cada vez mais acessível ao ovinocultor. A simplificação da técnica, bem como o aumento no número de técnicos capacitados, pode acelerar ainda mais este desenvolvimento. Atualmente, a transferência de embriões em ovelhas é uma realidade. Todavia, dados oficiais (Tab 1) revelaram um decréscimo no número de embriões ovinos (- 47 %) coletados no biênio 2004/2005, em detrimento da elevação no número de embriões caprinos (+ 293 %). A ausência de controles oficiais e/ou de comunicações de profissionais e associações pode fazer com que estes dados estejam sendo subestimados. De qualquer forma, o volume de embriões congelados cresceu substancialmente para as duas espécies. Parcialmente, isto pode ser resultado do crescimento mundial dos rebanhos caprino e ovino (Haenlein, 2004), espécies que têm movimentado considerável volume de intercâmbio genético (i.e. embriões e sêmen).

Tabela 1. Volume mundial de transferências de embriões em caprinos e ovinos no biênio 2004 - 2005

Embriões	Ano	Ovinos	Caprinos	Total
Coletados	2004 ¹	84.943	1.755	86.698
	2005 ²	34.458	5.135	39.593
	Evolução	- 59 %	293 %	- 54 %
Transferidos (fresco)	2004	62.088	422	62.510
	2005	13.745	3.439	17.184
	Evolução	- 78 %	815 %	- 73 %
Transferidos (congelados)	2004	6.006	315	6.321
	2005	11.408	3.897	15.305
		+ 190	+ 1.237	+ 242
	Evolução	%	%	%

¹Viana (2006), ²Viana (2007).

A técnica de transferência de embriões ovinos e caprinos, compreendendo a superovulação, acasalamento, colheita, manipulação, congelação/dcongelação e inovulação embrionária, apresenta grandes variações. O conhecimento das peculiaridades comportamentais, reprodutivas e anatômicas da espécie ovina, bem como variações destes parâmetros em função das raças exploradas, é imprescindível para obtenção de sucesso na atividade.

3.1. Doadora

A fêmea que entrará em um programa de superovulação e coleta de embriões – doadora de embriões – deve ser criteriosamente selecionada e avaliada. Normalmente, as características genéticas e produtivas que levam uma ovelha ou cabra a participar deste processo não são de escolha do técnico responsável pela transferência de embriões como um todo. Todavia, alguns cuidados devem ser tomados, sob pena de inferirem insucesso à atividade:

- Sanidade: a doadora deve estar com calendário sanitário atualizado em função da raça, estágio fisiológico, região do país em se encontra ou de onde for proveniente. Controle de verminose, tratamento de infecções e vacinações devem ser feitos com pelo menos 15 dias de antecedência e nunca durante o processo superovulatório;

- Nutrição: deve ser adequada aos mesmos parâmetros supracitados. Os animais devem receber alimentos, minerais e água compatíveis com seus requerimentos e, em hipótese alguma, pode-se modificar o plano alimentar da superovulação `a colheita de embriões. Alterações no manejo nutricional devem ser feitas com pelo menos duas semanas de antecedência;

- Estádio fisiológico e escore da condição corporal (ECC): doadoras devem estar plenamente recuperadas do estresse do parto, apresentar ECC superior a 2,5 (escala de 1 a 5), com no mínimo 100 dias pós-parto e não estar em condição de perda de peso. Animais excessivamente obesos devem ser evitados.

- Instalações: adequadas para prover o máximo de bem-estar animal e facilitar intervenções (administração de hormônios, acasalamento).

- Exame ginecológico: deve ser o mais completo possível. Vaginoscopia e ultra-sonografia são imprescindíveis para eliminar animais com gestação precoce e com problemas reprodutivos. Se possível, acessar histórico de fertilidade tanto da doadora quanto do reprodutor (inclusive sêmen congelado).

3.2. Superovulação

A superovulação em ovelhas e cabras tem princípios semelhantes à da vaca. Durante um ciclo estral normal, um a quatro folículos podem alcançar diâmetro ovulatório (Ginther & Kot, 1994; Deshpande et al., 1999; Evans, 2003). Estes folículos, ditos dominantes, estabelecem sua dominância, dentre outros aspectos, privando os demais folículos (subordinados) de hormônio folículo estimulante (FSH; Ginther et al, 1996). Desta forma, o princípio básico da superovulação é o fornecimento de grandes quantidades de FSH, levando a ovulações múltiplas. Preparações hormonais que variam no número de aplicações e na dose dos hormônios utilizados têm reportado sucesso. Os hormônios utilizados são FSH, eCG e hMG (gonadotrofina menopausal humana). A

administração de preparações com múltiplas aplicações de FSH (6 a 8 aplicações) é a mais comum. A dose total de FSH utilizada é relativamente elevada. A ampla variabilidade das respostas superovulatórias aos tratamentos gonadotróficos é, sem dúvida, o principal fator limitante da transferência de embriões em ovinos (Cognié et al., 1999; Driancourt, 2001). Diferentes fatores como perfil folicular ovariano no início das aplicações de FSH e preparações hormonais, têm sido associados a esta elevada variabilidade. Isto evidencia a necessidade de desenvolvimento de protocolos mais simples, eficientes, menos estressantes, menos onerosos e que garantam taxas de recuperação elevadas e constantes.

A superovulação pode ser feita com base na observação de estro e sem uso de progestágenos durante a estação reprodutiva. Todavia, a sincronização de estro facilita e otimiza os eventos envolvidos na superovulação e colheita de embriões. Normalmente, utilizam-se progesterona ou progestágenos impregnados em dispositivos vaginais ou auriculares com um tempo de exposição superior a 10 dias. A diminuição deste período de exposição pode facilitar e encurtar o processo e já tem sido feita com sucesso. A administração de prostaglandina durante o processo superovulatório é também necessária, a exemplo de outras espécies. Todavia, variações no momento da aplicação relativo ao momento da inserção do dispositivo devem ser consideradas.

A regressão luteal precoce é um fenômeno comum em ovelhas e cabras (Gordon, 1997). Todavia, este fato parece ser negligenciado ou ignorado, já que os protocolos de superovulação não utilizam agentes anti-luteolíticos (antiinflamatório) ou luteotróficos (hCG, GnRH, LH) ou progesterona exógena, como indicado para caprinos (Saharrea et al., 1998; Sales et al., 2002). Este fenômeno é exacerbado em cabras e ovelhas superovuladas e parece estar associado a elevadas concentrações plasmáticas de estrógenos durante a fase luteal inicial. Como conseqüência, nota-se um decréscimo na resposta superovulatória. A regressão luteal precoce é evidente cerca de quatro dias após o estro, mas as concentrações plasmáticas de progesterona incompatíveis com

atividade luteal normal já são detectadas aos três dias após estro em cabras acometidas (Saharrea et al., 1998). Em ovelhas superovuladas, a regressão luteal pode variar de 6 a 75 % (Fukui et al., 1998; Lopes Junior et al, 2006). As principais conseqüências da regressão luteal precoce são diminuição na taxa de recuperação e qualidade de embriões recuperados.

Dente os fatores que podem afetar a resposta superovulatória estão a estação do ano, raça, idade, condição corporal, nutrição e protocolos utilizados (Gordon, 1997). Todavia, um dos principais fatores é a presença de folículos maiores que 5-6 mm de diâmetro no início da aplicação de FSH ou outros hormônios com atividade folículo-estimulante. A presença destes folículos tem sido associada a respostas inferiores (Rubianes et al., 1995; Gonzalez-Bulnes et al., 1999; Gonzalez-Bulnes et al., 2002; Gonzalez-Bulnes et al., 2003). Desta forma, o ideal seria iniciar as aplicações de FSH paralelamente a emergência folicular. Como o um ciclo estral pode ter várias ondas e a (s) onda (s) intermediária (s) entre a primeira e última onda folicular aparece a intervalos irregulares, apenas a primeira onda poderia ser utilizada para este propósito. Neste sentido, com o auxílio de acompanhamento ultrassonográfico têm sido testados os protocolos do “dia 0”. Assim, a primeira aplicação de FSH é feita paralelamente à ovulação e emergência da primeira onda folicular (Rubianes e Menchaca, 2006; Fonseca et al., 2006). Os protocolos tradicionais têm por base a duração do ciclo estral, ao passo que os protocolos do “Dia 0” pautam-se nos recentes conhecimentos de dinâmica folicular associada à manipulação do ciclo estral em pequenos ruminantes (Tab. 2).

Tabela 2. Protocolos de superovulação em ovelhas

PROCEDIMENTO				
Dia	Hora	Tradicional ¹	Tradicional ²	“Dia 0” ³
0	08:00	Colocar CIDR	Colocar Esponja	Prostaglandina
2	06:00			Colocar dispositivo + 25 % dose FSH
	18:00			25 % dose FSH
3	06:00			15 % dose FSH
	18:00			15 % dose FSH
4	06:00			10 % dose FSH +
	18:00			10 % dose FSH
5	06:00			Retirar dispositivo + Prostaglandina
6	06:00			Jejum
	18:00			IA Laparoscópica
7	18:00			500 UI hCG
9	18:00	Trocar CIDR		
11	18:00	2,4 ml Folltropin		
12	06:00	2,4 ml Folltropin	50 UI pFSH	Jejum
	18:00	1,8 ml Folltropin	50 UI pFSH	
13	06:00	1,8 ml Folltropin	25 UI pFSH	Colheita
	18:00	1,6 ml Folltropin	25 UI pFSH	
14	06:00	1,2 ml Folltropin 200 UI eCG Remover CIDR	Retirar Esponja + 25 UI pFSH	
	18:00		25 UI pFSH + Acasalamento	
15	06:00	Jejum	Acasalamento	
	18:00	IA Laparoscópica	Acasalamento	
16	06:00		Acasalamento	
20	06:00	Jejum	Jejum	
21	08:00	Colheita	Colheita	

¹Gusmão (2006); ²Cordeiro et al. (2003). ³Fonseca (2006 a).

Tabela 3. Protocolos de superovulação em cabras

PROCEDIMENTO				
Dia	Hora	Tradicional ¹	Curto ²	“Dia 0” ³
0	08:00	Colocar esponja	Colocar Dispositivo + Prostaglandina	Prostaglandina
	18:00			
2	06:00			Colocar dispositivo + 25 % dose FSH
	18:00			
3	06:00			15 % dose FSH
	18:00			
4	06:00		25 % dose FSH	10 % dose FSH
	18:00			
5	06:00		25 % dose FSH	Retirar dispositivo + Prostaglandina
	18:00			
6	06:00		15 % dose FSH	Jejum
	18:00			
7	06:00		10 % dose FSH + Acasalamento	500 UI hCG
	18:00			
9	06:00	62,5 UI Pluset + 100 µg cloprostenol 62,5 UI Pluset	Acasalamento	
	18:00			
10	06:00	31,25 UI Pluset	Banamine	
	18:00			
11	06:00	15,63 UI Pluset + retirar esponja	Banamine	
	18:00			
12	06:00	15,63 UI Pluset + Acasalamento		Jejum
	18:00			
13	06:00	Acasalamento	Jejum	Colheita
	18:00			
14	06:00		Colheita	
20	06:00	Avaliação laparoscópica e colheita (5 a 6 dias após último acasalamento)		

¹Andrioli et al. (1999); ²Fonseca et al. (2005b). ³Fonseca et al. (2006).

Protocolos do “dia 0” tendem a simplificar o processo superovulatório, já que o período total entre o início da preparação e a colheita de embriões é menor. Outrossim, o reduzido período de

permanência dos dispositivos minimizam os riscos de perda, além de reduzir vaginites decorrentes do uso de dispositivos intravaginais. Outra forma de se simplificar a superovulação é reduzir o número de aplicações de FSH. Isto pode ser obtido associando ao diluente hormonal moléculas que permitam a liberação lenta de FSH. A associação de FSH com polivinilpirrolidina (PVP; D'Alessandro et al., 2001) teve taxas de recuperação embrionárias idênticas aos protocolos de múltiplas administrações.

Outras tentativas de melhoria da eficiência da superovulação incluem a adição de outros hormônios aos protocolos tradicionais. Tentativas de associação de GnRH seja como indutor de ovulação (Okada et al., 2001) seja como pré-tratamento (Bem Said et al., 2004) não resultaram em incremento significativo ou por vezes foram deletérias ao processo. Por outro lado, ovelhas tratadas com hormônio do crescimento apresentaram menor proporção de óocitos e embriões degenerados, maior número de embriões transferíveis (3,9 vs 1,7) e de cordeiros nascidos por doadora (2,28 vs 0,84) quando comparadas com ovelhas controle, respectivamente (Folch et al., 2001).

3.3. Acasalamento

O acasalamento pode ser feito de forma natural (monta) ou artificial (inseminação artificial). No caso da monta natural ou inseminação com sêmen a fresco, o macho deverá ser previamente avaliado (exame andrológico). As inseminações devem ser feitas por via laparoscópica para ovelhas e transcervical para cabras. O número de inseminações é variável, uma a duas inseminações intervaladas de 12 horas. A primeira ou única inseminação deve ser feita 36 horas após a retirada do dispositivo (Gusmão, 2006).

3.4. Colheita e Avaliação de Embriões

A colheita de embriões em ovelhas é predominantemente executada de forma cirúrgica e laparoscópica com animais sendo submetidos à anestesia geral (Gordon, 1997). Apesar de serem técnicas seguras e

precisas, apresentam todos os riscos e seqüelas inerentes aos processos cirúrgicos que envolvem exploração de órgãos abdominais, principalmente aderências (Andrioli et al., 1999). Ovelhas superovuladas e coletadas repetidamente não apresentam queda significativa na resposta. Todavia, o procedimento cirúrgico não é rotineiramente repetido mais de três vezes (Bari et al., 2001; Cordeiro et al., 2003). Este parece ser o limite das colheitas cirúrgicas, quando seqüelas cirúrgicas (i.e. aderências) inviabilizam novas coletas.

No início da década passada, o procedimento de colheita não-cirúrgica trans-cervical foi desenvolvido em cabras, sendo atualmente o mais utilizado no Brasil (Fonseca, 2006 b). A colheita não cirúrgica transcervical em ovelhas também foi reportada com sucesso (Barry et al., 1990; Almeida et al., 2002; Silva et al., 2005). O procedimento pode ser executado com o animal em estação. Anestesia epidural e local (cérvis), bem como leve sedação, minimizam o desconforto animal, facilitando o processo (Fonseca, 2006 b). A colheita deve ser efetuada seis a sete dias após o início do estro. Em média, cinco embriões viáveis são recuperados por colheita. A avaliação embrionária segue os princípios utilizados para bovinos (IETS, 1998; Strinfellow e Seidel, 1999). Jejum hídrico/alimentar mínimo de 24 horas antes da colheita.

3.5. Criopreservação de Embriões

A criopreservação e estocagem de embriões à temperaturas muito baixas (-196°C) é desejável, tanto por razões biológicas quanto comerciais. Sua aplicabilidade é ressaltada pelo grande volume de transferência de embriões mamíferos (i.e. pequenos ruminantes) registrado anualmente (vide Tab 1). Ela reduz a transmissão de doenças, custos de transporte e perdas genéticas, normalmente associados à manutenção de animais vivos. Os protocolos de criopreservação podem ser classificados basicamente em lentos ou rápidos, de acordo com a taxa de resfriamento e com o tipo e concentração dos aditivos (i.e. crioprotetores) utilizados (Shaw et al., 2000; Fonseca et al., 2002). As taxas de gestação em cabras e ovelhas inovuladas variam de 30 a 70 %

em função da qualidade embrionária (Gordon, 1997; Fonseca et al., 2005 a).

Vários métodos que utilizam diferentes agentes crioprotetores ou mesmo associação destes (Fonseca et al., 2002). O método mais utilizado na criopreservação de embriões ovinos é a congelação de embriões em glicerol com desidratação (pré-congelação) e re-hidratação (pós-descongelação) em vários passos (*steps*) (Gordon, 1997). Os embriões, após desidratação e envase, são colocados em máquinas à temperatura entre -5 e -7°C, submetidos após tempo de equilíbrio (5 min) e indução de cristalização (*seeding*) a taxas de resfriamento entre 0,3-0,6°C/min até -30 a -32°C, quando as palhetas contendo os embriões são imersas em nitrogênio líquido.

Tentativas de substituição do glicerol pelo etileno glicol tem sido reportadas com sucesso. Outra alternativa é a queda de temperatura lenta da temperatura ambiente (20°C) até -5/-7°C. Blastocistos ovinos grau I-II congelados em etileno glicol (1,5M / -1°C/min 0 °C até -6,5°C) obtiveram eleva taxa de sobrevivência embrionária pós-descongelação (McGinnis et al., 1989). Mórulas e blastocistos caprinos grau I-II congelados em etileno glicol (1,5M / 3°C/min até -6°C) obtiveram 67% de taxa de gestação quando transferidos diretamente (re-hidratação na própria palheta) para receptoras (Fonseca et al., 2005 a). Esta última metodologia tem alcançado resultados semelhantes em ovinos (Fonseca, 2007²).

Vitrificação é um processo de criopreservação onde se obtém solidificação sem formação ou separação de cristais de gelo e sem concentração de solutos (evita choque osmótico), fatos que podem ocorrer em maior ou menor proporção nos métodos tradicionais de congelação. Há uma grande viscosidade do meio de vitrificação (congelação) e altas taxas de resfriamento são conseguidas (2.500°C/min). Em ovinos, Baril et al. (2001) obtiveram 53 % de fetos nascidos oriundos de transferência direta de embriões vitrificados. Estes resultados podem ser ainda mais significativos, considerando que a vitrificação não envolve processos

² Dados não publicados.

mais laboriosos e uso de equipamentos mais sofisticados, como máquinas de congelamento de embriões.

3.6. Receptora

A maior parte da eficiência da transferência de embriões recai sobre a receptora. O padrão de seleção de receptoras ovinas deve seguir as mesmas premissas citadas para as doadoras de embriões:

- Receptoras devem apresentar perfeita condição clínico-patológica. Recomendam-se receptoras com vacinas atualizadas para as diferentes enfermidades. Nenhuma intervenção sanitária, a não ser emergencial, deve ser feita entre duas semanas antes do início da indução de estro ou estro, ou antes dos 90 dias após a inovulação;
- Deve-se atentar para um plano nutricional adequado e contínuo, incluindo mineralização e fornecimento de água de boa qualidade;
- Não utilizar receptoras com peso inferior a 70% do peso de ovelha adulta da raça e o ECC deve estar entre 3 e 4, preferencialmente;
- O protocolo de sincronização de estro deve embasar-se no tempo de permanência do implante (progestágeno ou progesterona) nas doadoras ou ainda no dia do estro estimado das doadoras. Sugere-se que a inserção e remoção do dispositivo sejam efetuadas entre 10:00 e 12:00 horas. Estros naturais também podem ser utilizados, desde que atendam à sincronia com a doadora. Normalmente, 10 receptoras são sincronizadas para cada doadora;

3.7. Inovulação Embrionária

A inovulação embrionária em ovelhas pode ser feita pelo método cirúrgico, laparoscópico, semi-laparoscópico ou transcervical, sendo a última pouco relatada. Normalmente, observam-se taxas de gestação que variam de 40 a 80 %. Os mesmos fatores que interferem na taxa de gestação em bovinos também atuam em ovinos. Todavia, métodos que possibilitam a observação e caracterização precisa do corpo lúteo têm expectativas de taxas de gestação superiores, uma vez que receptoras

com regressão luteal ou corpos lúteos de baixa qualidade morfológica possam ser eliminadas.

Para cada doadora são sincronizadas 5 a 10 receptoras. A transferência de apenas um embrião por receptora é preferível, mas os embriões podem também ser transferidos aos pares, sempre do mesmo lado (ipsilaterais) do (s) corpo (s) lúteo (s). Devem-se preferir animais com sincronia total com a doadora (estro no mesmo dia) e em seguida animais com um dia de assincronia. A inovulação transcervical não-cirúrgica, executada de forma semelhante à colheita de embriões transcervical, pode ser uma tendência futura, a exemplo do que ocorreu em bovinos. Neste caso, o corpo lúteo deve ser localizado por ultrasonografia para determinação de qual corno receberá o embrião. O uso de drogas dilatadoras da cérvix (oxitocina e estrógeno) e que não afetam a função luteal permitem a inovulação transcervical com sucesso (Khalifa et al., 1992; Wulster-Radcliffe et al 1999). O inovulação é semelhante à colheita transcervical. Todavia, o diâmetro do inovulador, a idade e a ordem de parição poderão conferir maior ou menor facilidade à técnica, o que permanece como objeto de estudo. Na figura 2, pode-se observar a caracterização ultra-sonográfica do corpo lúteo e passagem de aplicador através da cérvix que resultou em prenhez e nascimento de um cordeiro da raça Texel (Fonseca, 2006 a).

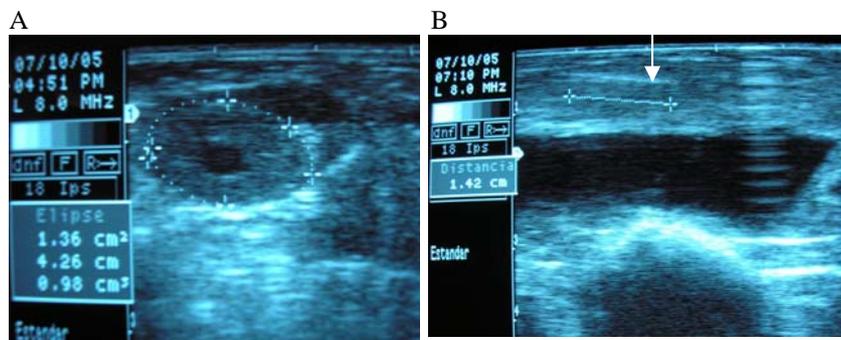


Figura 2. Caracterização ultra-sonográfica de corpo lúteo cavitário em ovelha receptora sem raça definida no sexto dia do ciclo estral (A) e identificação (seta branca) do cateter transpassando o canal cervical (B).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Antes do emprego efetivo de qualquer técnica de reprodução assistida, como a sincronização/indução de estro e transferência de embriões, um diagnóstico pormenorizado das características do sistema de produção em questão deve ser efetuado. Desta forma, o uso de biotecnologias da reprodução em caprinos e ovinos abre uma série de possibilidades que, se bem orientadas, podem melhorar a eficiência reprodutiva e, conseqüentemente, a produtividade do rebanho.

5. REFERÊNCIAS

- Almeida VM, Câmara DR, Salles HO, Oliveira DPF, Medeiros JN, Alves OMM. 2002. Colheita de embriões via transcervical em ovinos. *Rev Bras Reprod Anim*, 5:82-84.
- Andrioli A, Simplício AA, Soares AT, Visintin JA. 1999. Eficiência da recuperação de embriões e os efeitos de consecutivas colheitas sobre o aparelho reprodutor de doadoras da espécie caprina. *Braz J Vet Res Anim Sci*, 36:136-143.
- Bari F, Khalid M, Wolf B, Haresign W, Murray TMA, Merrell B. 2001. The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. *Theriogenology*, 56:147-155.
- Baril G, Remy B, Leboeuf B. 1996. Synchronization of estrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*, 45:1553-1559.
- Baril G, Remy B, Vallet JC. 1992. Effect of repeated use of progestagen-PMSG treatment for estrous control in dairy goats out of the breeding season. *Reprod Domest Anim*, 27:161-168.
- Barry DM, Van Niekerk CH, Rust J, Van Der Walt T. 1990. Cervical embryo collection in sheep after ripening of the cervix with prostaglandin E2 and estradiol. *Theriogenology*, 33:190.
- Ben Said S, Touzé, JL, Baril G, Beckers JF, Cognié Y. 2004. Long-term exposure to GnRH agonist does not modify the sheep ovarian response to superovulatory FSH treatment. *Reprod Fertil Devel*, 16:510.
- Cavalcanti AS, Fonseca JF, Nogueira LAG, Brandão FZ, Silva ALS, Pinho TG, Pinna AE, Carvalho BC. 2006. Efeito do GnRH na taxa de gestação em protocolos de sincronização de estro em ovelhas. *Acta Vet Sci*, 34:384.

- Cavalcanti AS, Fonseca JF, Nogueira LAG, Brandão FZ, Silva ALS, Pinho TG, Boité MC, Carvalho BC. 2006. Taxa de ovulação em protocolos de sincronização com progestágenos associados ao GnRH em ovelhas. *Acta Vet Sci*, 34:385.
- Cognie Y. 1999. State of the art in sheep-goat embryo transfer. *Theriogenology*, 51:105-116.
- Cordeiro MF, Lima-Verde JB, Lopes-Júnior ES, Teixeira DIA, Farias LN, Sales HO, Simplício AA, Rondina D, Freitas VJF. 2003. Embryo recovery rate in Santa Inês ewes subjected to successive superovulatory treatments with pFSH. *Small Rumin Res*, 49:19-23.
- D'Alessandro AG, Martemucci G, Colonna MA, Borghese A, Terzano MG, Bellitti A. 2001. Superovulation in ewes by a single injection of pFSH dissolved in polyvinylpyrrolidone (PVP): effects of PVP molecular weight, concentration and schedule of treatment. *Anim Reprod Sci*, 65:255-264.
- Deshpande D, Ravindra JP, Narendranath R, Narayana K. 1999. Ovarian antral follicular dynamics and serum progesterone concentration during the oestrous cycle of Bannur ewes. *Indian J Anim Sci*, 69:932-934.
- Driancourt DA. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals: implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55:1211-1239.
- Evans ACO. 2003. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim Reprod Sci*, 78:289-306.
- Findlater RCF, Haresign W, Curnock RM, Beck NFG. 1991. Evaluation of intrauterine insemination of sheep with frozen semen: effects of time of insemination and semen dose on conception rates. *Anim Prod*, 53:89-96.

- Folch J, Ramón JP, Cocero MJ, Alabart JL, Bechers JF. 2001 Exogenous growth hormone improves the number of transferable embryos in superovulated ewes. *Theriogenology*, 55:1777-1785.
- Fonseca JF, Bruschi JH, Viana JHM, Zambrini FN, Palhão MP, Santos AFA. 2005a. Freezing goat embryos using ethylene glycol and a slow cooling rate. In: 9TH ANNUAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR REPRODUCTION IN DOMESTIC, 2005, Murcia. Proceedings of the 9th annual conference of the European Society for Reproduction in Domestic Animals. ESDAR. *Reprod Dom Anim*, 40:350.
- Fonseca JF, Bruschi JH, Viana JHM, Zambrini FN, Palhão MP; Magalhães ACM. 2004. Induction of synchronized estrus in Santa Inês sheep. In: IX JORNADA DE MEDICINA VETERIBNÁRIA DA UNIPAR, 2004, Umuarama-PR. Anais da IX Jornada de Medicina Veterinária da Unipar.
- Fonseca JF, Bruschi JH, Zambrini FN, Viana JHM, Amorim LS, Camargo LSA. 2006. Superovulação de cabras utilizando a primeira onda folicular do ciclo estral. *Acta Sci Vet*, 34:509.
- Fonseca JF, Bruschi JH. 2005. Reprodução Assistida em Pequenos Ruminantes. *Rev Ciências Agrárias*, 43:1-13.
- Fonseca JF, Torres CAA, Pinto Neto A. 2002. Criopreservação de embriões bovinos. *Vet Not*, 8:115-123.
- Fonseca JF, Viana JHM, Bruschi JH, Zambrini FN, Palhão MP, Santos AFA. 2005 b. Resposta superovulatória em cabras Saanen lactantes utilizando curtos protocolos de exposição à progesterona e somatotropina bovina recombinante (rbST). *Acta Sci Vet*, 32:243.
- Fonseca JF. 2002. Controle e perfil hormonal do ciclo estral e performance reprodutiva de cabras Alpinas e Saanen. 2002. Thesis (PhD) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

- Fonseca JF. 2005. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em caprinos e ovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2005, Goiânia, **Anais...**, Goiânia, 2005.
- Fonseca JF. 2006 a. Biotecnologias da reprodução em ovinos e caprinos. Embrapa Caprinos, Documentos 64.
- Fonseca JF. 2006 b. Alguns aspectos da transferência de embriões em caprinos. *Acta Sci Vet*, 34:65-70.
- Fukui Y, Okada M, Ishida M. 1998. Incidence of premature luteal regression in ewes superovulated with a single injection of follicle-stimulating hormone combined with equine chorionic gonadotropin. *J Reprod Dev*, 44:407-412.
- Gil J, Oliveira J, Menchaca A, Rubianes R. 2004. Effect of GnRH associated with the application of timed artificial insemination in ewes. *Reprod Fertil Devel*, 16:507.
- Ginther OJ, Kot K. 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*, 42:987-1001.
- Ginther OJ, Wiltbank MC, Friche PM, Gibbons JR, Kot K. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*, 55:1187-1194.
- Gómez JD, Balasch S, Gómez LD, Martino A, Fernández N. 2006. A comparison between intravaginal progestagen and melatonina implant treatments on the reproductive efficiency of ewes. *Small Rumin Res*, 66:156–163.
- Gonzalez-Bulnes A, Garcia-Garcia RM, Santiago-Moreno J, Dominguez V, Lopez-Sebastian A, Cocero MJ. 2003. Reproductive season affects inhibitory effects from large follicles on the response to superovulatory FSH treatments in ewes. *Theriogenology*, 60:281–288.

- Gonzalez-Bulnes A, Garcia-Garcia RM, Santiago-Moreno J, Lopez-Sebastian A, Cocero MJ. 2002. Effect of follicular status on superovulatory response in ewes is influenced by presence of corpus luteum at first FSH dose. *Theriogenology*, 58:1607-1614.
- Gonzalez-Bulnes A, Santiago-Moreno J, Cocero MJ, Souza CJH, Garcia-Garcia RM, Lopez-Sebastian A, Baird DT. 1999. Effect of follicular status on superovulatory response in ewes is influenced by presence of corpus luteum at first FSH dose. *J Reprod Fertil*, 24:6.
- Gordon I. Controlled reproduction in sheep and goats. Cambridge, UK: University Press, 1997.
- Gusmão AL. 2006. Transferência de embriões em pequenos ruminantes. *O Embrião*, 25:6-9.
- Haenlein GFW. 2004. Goat milk in human nutrition. *Small Rumin Res*, 51:155-163.
- Khalifa RME, Sayre BL, Lewis GS. 1992. Exogenous oxytocin dilates the cervix in ewes. *J Anim Sci*, 70:38-42.
- Lassoued N, Khaldi G, Chemineau P, Cognié Y, Thimonier J. 1997. Role of uterus in early regression of corpora lutea induced by ram effect in seasonally anoestrous Barbarine ewes. *Reprod Nutr Dev*, 37:559-571.
- Lassoued N, Khaldi G, Cognié Y, Chemineau P, Thimonier J. 1995. Effet de la progesterone sur le taux d'ovulation et la durée du cycle ovarien induits par effet male chez la brebis Barbarine et la chèvre locale tunisienne. *Reprod Nutr Dev*, 35:415-426.
- Lopes Júnior ES, Maia ELMM, Almeida KC, Paula NRO, Teixeira DIA, Rondina D, Selaive-Villaroel AB, Freitas VJF. 2006. Influência dos níveis plasmáticos de progesterona sobre a resposta ovariana e produção embrionária de ovelhas Morada Nova (variedade branca). *Acta Vet Sci*, 34:510.
- Mazorra AL, Loureiro MFP, Traldi AS. 2001. Indução do estro por implantes de melatonina ou pessários vaginais em caprinos leiteiros e

- sua correlação com fertilidade. In: Simpósio Internacional de Reproducción Animal, 4, Córdoba, 2001. Anais... p. 297.
- McGinnis LK, Duplants SC, Waller SL, Youngs CR. 1989. The use of ethylene glycol for cryopreservation of sheep embryos. *Theriogenology*, 31:226.
- Mellado M, Alemán R, Orozco FJ. 1994. Effect of prostaglandin dosage and route of administration on estrous response in Criollo goats under range conditions. *Small Rumin Res*, 14:205-208.
- Menchaca A, Rubianes E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod Fertil Devel*, 16:403-413.
- Neves TC, Fernandes BA, Machado TMM. 1997. Controle do fotoperíodo para a indução de estro em cabras. *Rev Bras Reprod Anim*, 21:132-134.
- Okada A, Andoh T, Mizuochi Y, Yoshii K, Ishida N, Fukui Y. 2001. Effects of dosage and treatment phase with GnRH analogues at the estrous stage on superovulation ewes. *J Reprod Dev*, 47:275-281.
- Rajamahendran R, Raniowski J, Ravindran V. 1993. Effects of PMSG and ram contact on the reproductive performance of progestagen-treated ewes during breeding and anestrous season. *Small Rumin Res*, 10:341-347.
- Reyna J, Thompson P, Evans G, Maxwell C. 2005. Synchronization of ovulation in Merino ewes with GnRH in the breeding and non-breeding season. *Reprod Fertil Devel*, 17:320.
- Rodrigues MH, Fonseca FA, Espeschist CJB, Rodrigues MT. 1994. Efeito da manipulação do fotoperíodo na indução de estro em cabras leiteiras mestiças. *Rev Bras Zootec*, 23:909-915.
- Rubianes E, Ibarra D, Ungerfeld R, Carbajal B, De Castro T. 1995. Superovulatory response in anestrous ewes is affected by the presence of a large follicle. *Theriogenology*, 43:465-472.

- Rubianes E, Menchaca A. 2006. Dinâmica folicular, sincronização de estro e superovulação em ovinos. *Acta Vet Sci*, 34:251-261.
- Safranski UTJ, Lamberson WR, Keisler DH. 1992. Use of melengestrol acetate and gonadotropins to induce fertile estrus in seasonally anestrous ewes. *J Anim Sci*, 70:2935-2941.
- Saharrea A, Valencia J, Balcázar A, Medja O, Cerbón JL, Caballero V, Zarco L. 1998. Premature luteal regression in goats superovulated with PMSG: effect of hCG or GnRH administration during the early luteal phase. *Theriogenology*, 50:1039-1052.
- Sales HO, Andrioli A, Simplício AA, Medeiros JN, Machado OM. 2002. Manual de transferência de embriões em caprinos. Embrapa Caprinos, Documentos 40.
- Sasa, A., Torreão, J.N.C.; Coelho, L.A et al. 2004. The use of artificial photoperiod associated to male effect and male effect alone on reproductive activity in Saanen goats under subtropical conditions in Brazil. In: International Congress on Animal Reproduction, 15, 2004, Porto Seguro, BA. Abstracts ... Porto Seguro: CBRA, ICAR. p.294.
- Schinckel PG. 1954. The effect of the presence of the ram on ovarian activity of the ewe. *Aust J Agric Res*, 5:65.
- Shaw JM, Oranratnachay A, Trouson AO, 2000. Fundamental cryobiology of mammalian oocytes and ovarian tissues. *Theriogenology*, 53:59-72.
- Silva JC, Quintela A, Andrade Moura JC. et al. 2005. Colheita transcervical de embriões ovinos da raça Dorper no semi-árido nordestino. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2005, Goiânia, **Anais...**, Goiânia.
- Simplício AA, Salles HO, Santos DO et al. 2001. Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos de corte em regiões tropicais. Sobral, CE: Embrapa Caprinos. (Documentos, n.40).

- Souza JMG, Gomes LM, Monteiro Jr PLJ, Bruschi JH, Viana JHM, Camargo LSA, Fonseca JF. 2007. Uso de protocolos curtos para indução de estro em ovelhas Santa Inês. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 17, 2007, Curitiba, **Anais...**, Curitiba.
- Stringfellow DA, Seidel SM. 1999. Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. Savoy: IETS, 3 ed.
- Ungerfeld R, Rubianes E. 1999. Estrus response to the ram effect in Corriedale ewes primed with medroxyprogesterone during the breeding season. *Small Rumin Res*, 32:89-91.
- Viana JHM. 2006. A produção mundial de embriões. *O Embrião*, 25:4-5.
- Viana JHM. 2007. Cenário atual da Transferência de embriões produzidos in vivo e in vitro no Brasil e no Mundo. *O Embrião*, 29:4-7.
- Viñoles C, Forsberg M, Banchero G. et al. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55:993-1004.
- Wulster-Radcliffe MC, Costine BA, Lewis GS. 1999. Estradiol-17-Oxytocin-induced cervical dilation in sheep: application to transcervical embryo transfer. *J Anim Sci*, 77:2587-2593.
- Zúñiga O, Forcada F, Abecie JA. 2002. Effect of melatonin implants on the response to the male effect and on subsequent cyclicity of Rasa Aragonesa ewes implanted in April. *Anim Reprod Sci*, 72:165-174.