

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro
Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias

**Sincronização ovárica e inseminação artificial em ovelhas cruzadas de
Awassi x Sarda**

Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica

Daniela Martins Pera

Orientadores: Professor Doutor Jorge Manuel Teixeira de Azevedo
Professor Doutor Ramiro Corujeira Valentim
(Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança)



Vila Real, 2021

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias

**Sincronização ovárica e inseminação artificial em ovelhas cruzadas de
Awassi x Sarda**

Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica

Daniela Martins Pera

Orientadores: Professor Doutor Jorge Manuel Teixeira de Azevedo

Professor Doutor Ramiro Corujeira Valentim
(Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança)

Composição do Júri

Presidente: Doutor António Mário Domingues Silvestre

Vogais: Doutor José Carlos Marques de Almeida

Doutora Sandra Maria Rosa Sacoto

Doutor Ramiro Corujeira Valentim

Vila Real, 2021

*“As doutrinas apresentadas no presente trabalho são
da exclusiva responsabilidade do autor”*

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador Professor Doutor Jorge Azevedo pelo apoio e disponibilidade de me orientar. Pela preocupação e amabilidade que sempre demonstrou ao longo deste tempo. E pela partilha de todos os conhecimentos e conselhos que foram fundamentais na realização deste trabalho.

Agradeço ao meu orientador Professor Doutor Ramiro Valentim pela disponibilidade e receptividade desde o primeiro instante de me receber na sua equipa de trabalho. Pelo apoio, compreensão e pela ajuda nas dificuldades que surgiram ao longo deste percurso, tornando a realização deste trabalho possível.

À Exploração Comercial Mateus LDA., por permitir a utilização dos animais. Ao Senhor Alípio, à Dona Celeste, ao Luís Silva e em especial ao Óscar Mateus, por toda a ajuda, pelos ensinamentos e disponibilidade.

A todo o corpo docente e colegas do Mestrado em Engenharia Zootécnica, que desde o primeiro momento que souberam que vinha de uma área de formação diferente, disponibilizaram a sua ajuda e apoio para superar as minhas dificuldades.

À minha família, por me anima neste percurso, em especial ao meu namorado por todo apoio, que nos momentos mais difíceis nunca me deixou desistir.

À todos os meus amigos que de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo

Numa exploração animal, o manejo reprodutivo é extremamente importante, uma vez que é a principal fonte de entradas económicas. O controlo da atividade reprodutiva é essencial à sua organização e gestão adequada, dado que permite adequar os ciclos de nascimentos e de produção às exigências sazonais do mercado de produtos de origem animal.

A técnica de inseminação artificial (IA) revolucionou a produção em várias espécies animais, não apenas em termos de organização e gestão, mas principalmente na melhoria do valor genético dos efetivos animais. Do ponto de vista da produção ovina é importante conhecer a eficácia da aplicação das técnicas de controlo reprodutivo e de IA em explorações comerciais.

O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a eficácia da aplicação de dois tratamentos – FGA vs. CIDR + eCG (500 UI) – de controlo da atividade reprodutiva em ovelhas cruzadas Awassi x Sarda, durante o mês de junho. Simultaneamente procurou-se avaliar os efeitos do carneiro e do inseminador sobre a taxa de fertilidade pós-inseminação com sémen refrigerado.

O ensaio foi realizado em Carviçais, Torre de Moncorvo, mais precisamente na Exploração Comercial (Mateus Lda.), entre os meses de junho e agosto de 2019. Nele foram utilizadas 43 ovelhas lactantes cruzadas de Awassi x Sarda e três carneiros Assaf. O estudo começou com a avaliação da ciclicidade ovárica pré-tratamentos de controlo da atividade reprodutiva. De seguida, as ovelhas foram divididas em dois grupos: FGA (acetato de fluorogestona) e CIDR (Controlled Internal Drug Release). As ovelhas do grupo FGA receberam uma esponja vaginal impregnada com 20 mg de FGA e as do grupo CIDR um dispositivo intravaginal com 0,35 g de progesterona (P4). Os tratamentos com progesterona/progestagénio tiveram uma duração de 7 dias. Quando da remoção das esponjas/dispositivos vaginais, todas as ovelhas receberam uma injeção de 500 UI de eCG (Gonadotropina Coriónica equina). A IA foi realizada 53 + 1 hora pós-remoção das esponjas/dispositivos por dois inseminadores.

Na segunda quinzena de junho, todas as ovelhas Awassi x Sarda estavam cíclicas. Ambos os tratamentos curtos (FGA ou CIDR) + eCG foram 100% eficazes. Quarenta e um dias após a IA, 83,7% das ovelhas Awassi x Sarda estavam gestantes. O tratamento hormonal afetou a taxa de fertilidade pós-IA (CIDR: 77,3% vs. FGA: 90,5%). O carneiro dador de sémen condicionou a taxa de fertilidade (A: 88,9% vs. B: 90,5% vs. C: 69,0%). O inseminador não influenciou a taxa de fertilidade (Experiente: 87,5% vs. Inexperiente: 78,9%).

Palavras-chave: Ovinos, Awassi x Sarda, FGA, CIDR, Inseminador, IA.

Abstract

Breeding management is the highest source of incomes in any animal farm. Breeding control allows the effective organization and management of all farms activities and the adjustment of births periods to seasonal demand of animal products market.

Artificial insemination has changed animal production dramatically in the last decades. The implementation of this technic depends on breeding control, especially in small ruminant herds.

The main goal of this paper is to assess the efficiency of two short term breeding control protocols – FGA vs. CIDR + eCG (500 IU) – in Awassi x Sarda ewes by June. Artificial insemination efficacy and the effects of ram and inseminator on fertility rate were also evaluated.

The experiment took place at Carviçais, Torre de Moncorvo county, in a commercial farm (Exploração Mateus Lda.) by June to August involving 43 lactating Awassi x Sarda ewes and 3 Assaf males. Ovarian activity previous to treatments were assessed. Ewes were divided into two groups: FGA and CIDR. FGA ewes received a vaginal sponge impregnated with 20 mg of fluorogestone acetate (FGA) while CIDR ewes received a controlled internal drug release (CIDR) intravaginal device with 0.35 g of progesterone. Progesterone/progestogen treatments lasted for 7 days. At vaginal sponge/device removal ewes were injected 500 IU of eCG (equine Chorionic Gonadotrophin). Artificial insemination has performed 53 + 1 hour after eCG administration by 2 inseminators.

All Awassi x Sarda ewes were cycling in the second half of June. Both short term treatments were 100% effective. Forty-one days after insemination 83.7% of Awassi x Sarda ewes were pregnant. Hormonal treatment (CIDR: 77.3% vs. FGA: 90.5%) and ram (A: 88.9% vs. B: 90.5% vs. C: 69.0%) affected the fertility rate. Inseminator (Experienced: 87.5% vs. Inexperienced: 78.9%) did not affect the fertility rate.

Keywords: sheep, Awassi x Sarda, FGA, CIDR, artificial insemination, inseminator.

Índice Geral

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	iii
Abstract	v
Índice Geral	vi
Índice de Figuras	ix
Índice de Quadros.....	xi
Lista de Siglas e Abreviaturas	xii
Introdução.....	1
I- Revisão Bibliográfica	3
1. Raça Awassi e Sarda	3
2. Fisiologia Reprodutiva na Ovelha.....	5
2.1. Sazonalidade Reprodutiva.....	5
2.2. Ciclo Éstrico.....	7
3. Controlo da Atividade Reprodutiva	10
3.1. Tratamentos com Progesterona/Progestagénios.....	10
3.1.1. Tratamentos Progestagénicos Longos.....	13
3.1.2. Tratamentos Progestagénicos Curtos	14
3.1.3. Tratamentos Progestagénicos Longos vs. Curtos.....	15
3.2. Indução da Ovulação	16
4. Inseminação Artificial	17
4.1. Cérvix	18
4.1.1. Tamanho e Forma do Cérvix.....	18
4.1.2. Os Externo.....	19
4.2. Reprodutores a Utilizar na IA	20
4.3. Sémen.....	21

4.3.1. Recolha do Sémen.....	21
4.3.1.1. Vagina Artificial.....	22
4.3.1.2. Eletroejaculação	23
4.3.2. Métodos de Preservação do Sémen	24
4.3.2.1. Sémen Fresco	24
4.3.2.2. Sémen Refrigerado	25
4.3.2.3. Sémen Congelado.....	25
4.3.2.4. Diluidores	26
4.4. Técnicas de IA.....	26
4.4.1. Inseminação Vaginal	27
4.4.2. Inseminação Cervical	27
4.4.3. Inseminação Transcervical	28
4.4.4. Inseminação Intrauterina	28
II- Trabalho Experimental.....	31
1. Material e Métodos.....	31
1.1. Animais	31
1.2. Alimentação	31
1.3. Avaliação da Atividade Ovária	31
1.3.1. Avaliação da Ciclicidade Pré-Tratamentos Progestagénicos	32
1.3.2. Avaliação da Resposta Ovária aos Tratamentos Progestagénicos + eCG.....	32
1.4. Tratamentos Aplicados.....	32
1.5. Doses Seminais	33
1.5.1. Recolha de Sémen e Análise Seminais	33
1.5.2. Preparação das Doses Seminais	34
1.6. Inseminação Artificial a Tempo Fixo.....	34
1.7. Posição das Fêmeas Durante a Inseminação Artificial	35

1.8. Diagnóstico de Gestação	35
1.9. Análise Estatística	35
2. Resultados e Discussão	36
2.1. Idade	36
2.2. Condição Corporal	36
2.3. Avaliação da Ciclicidade Pré-tratamentos Progestagénicos	37
2.4. Resposta Ovária aos Tratamentos Progestagénicos Curtos + eCG	38
2.5. Resposta à Inseminação Artificial.....	38
2.6. Possíveis Fatores Condicionadores da Taxa de Fertilidade	39
2.6.1. Tratamento Hormonal	39
2.6.2. Carneiro	40
2.6.3. Inseminador	41
2.6.4. Refluxo Cervical de Sêmen.....	42
III- Conclusões	43
IV- Referências Bibliográficas	45

Índice de Figuras

Figura 1. Ovelhas da raça Awassi	4
Figura 2. Ovelha da raça Sarda	5
Figura 3. Integração dos sinais endógenos e exógenos nas vias neuroendócrinas que regulam a atividade reprodutiva sazonal	6
Figura 4. Perfis de secreções de gonadotrofinas hipofisárias – FSH e LH –, de esteroides sexuais – progesterona (P_4), estradiol (E_2) –, e de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ao longo do ciclo éstrico	8
Figura 5. Representação esquemática do crescimento de folículos antrais ovários com 2-3 mm de diâmetro, no decurso do ciclo éstrico da ovelha.....	9
Figura 6. Dispositivos vaginais utilizados no controlo reprodutivo dos pequenos ruminantes; esponjas intravaginais (A e B), DICO (C) e CIDR (D)	11
Figura 7. Variação temporal dos níveis plasmáticos médios de cronolona em ovelhas tratadas com Chronogest CR.....	12
Figura 8. Curva temporal da libertação de progesterona a partir do CIDR e do DICO	13
Figura 9. Evolução dos tratamentos com progestagénios aplicados na ovelha nos últimos 70 anos	15
Figura 10. Representação da anatomia do canal cervical da ovelha (A) e das pregas cervicais (B).....	19
Figura 11. Morfologia da abertura cervical externa das ovelhas, segundo classificação proposta por Halbert <i>et al.</i> (1990) e modificada por Kershaw <i>et al.</i> (2005). (A) Bico de pato, (B) Fenda, (C) Roseta, (E) “Flap” ou aba.....	20
Figura 12. Contenção e preparação de um carneiro para recolha de sémen por electroejaculação (A) e modelo de uma vagina artificial para ovinos (B).....	22
Figura 13. Ovelhas cruzadas de Awassi x Sarda utilizadas no ensaio	31
Figura 14. Material necessário à colocação das esponjas vaginais (esquerda) e dos dispositivos CIDR (direita)	33
Figura 15. Equipamento de inseminação (A) e observação de Os externo (B)	35

Figura 16. Variação da taxa de fertilidade em função da CC das ovelhas Awassi x Sarda	37
Figura 17. Variação da taxa de fertilidade em função do tratamento hormonal utilizado – progesterona (CIDR) vs. FGA (esponja vaginal)	40
Figura 18. Variação da taxa de fertilidade em função da experiência do inseminador	41

Índice de Quadros

Quadro I. Características seminais de cada macho dador de sémen..... 34

Quadro II. Taxa de fertilidade pós-refluxo cervical conseguida pelos
inseminadores..... 42

Lista de Siglas e Abreviaturas

% – Percentagem

°C – Grau Celsius

CASA – *Computer-Assisted Semen Analysis*

CC – Condição Corporal

CIDR – *Controlled Internal Drug Release*

CL – Corpo Lúteo

cm – Centímetro

DICO – *Caprine Ovine Intravaginal Device*

E₂ – Estradiol

eCG – Gonadotropina Coriônica equina

FGA – Acetato de fluorogestona

FSH – Hormona Folículo-Estimulante

FTAI – Inseminação Artificial a Tempo Fixo

g – Grama

GnRH – Hormona Libertadora de Gonadotropinas

hCG – Gonadotrofina Coriônica humana

i.m. – Intramuscular

IA – Inseminação Artificial

kg – Quilograma

LH – Hormona Luteinizante

MAP – Acetato de medroxiprogesterona

mg – Miligrama

MHz – MegaHertz

ml – Mililitro

mm – Milímetro

P₄ – Progesterona

PGF_{2α} – Prostaglandina F_{2α}

pH – Potencial de Hidrogénio

r.p.m. – Rotação por minuto

TAI – Inseminação artificial transcervical

UI – Unidade Internacional

VA – Vagina artificial

vs. – *Versus*

χ^2 – Qui quadrado

μg – Microgramas

Introdução

Na última década, o número de ovelhas exploradas a nível mundial diminuiu (Morris, 2009, 2017). Contudo, elas continuam a ter uma grande importância, principalmente a nível regional. Existe cerca de mil milhões de ovinos em todo o mundo a produzir leite, lã e carne, explorados em diferentes sistemas de produção (Morris, 2009, 2017). Os criadores destes animais procuram continuamente melhorar a rentabilidade das explorações, reduzir os custos de produção e otimizar a produção dos seus efetivos melhorando as taxas reprodutivas e produtivas (Cabrera *et al.*, 2019).

Os ovinos são animais poliéstricos sazonais (Valentim *et al.*, 2006, Yacoub *et al.*, 2011 e Valentim *et al.*, 2015a). A duração da estação reprodutiva varia em função da latitude – diminui com o aumento da latitude (Chemineau *et al.*, 1992, Valentim, 2004, Pérez-Clariget e Porras, 2008 e Fonseca *et al.*, 2010). A atividade reprodutiva tende a ser mais marcada sob um fotoperíodo decrescente ou de “dias curtos” (outono e inverno), para que os partos ocorram na primavera, quando as condições ambientais são mais favoráveis, tanto para a progenitora, como para as crias (Valentim *et al.*, 2006, Yacoub *et al.*, 2011 e Valentim *et al.*, 2015a). Nas regiões temperadas, a sazonalidade é marcada principalmente pelo fotoperíodo, que influencia a atividade pulsátil das hormonas que participam na fisiologia reprodutiva (Chemineau *et al.*, 1992, Baril *et al.*, 1993, Chemineau *et al.*, 2008, Pérez-Clariget e Porras, 2008, Chemineau *et al.*, 2010, Fonseca *et al.*, 2010 e Santolaria *et al.*, 2011). Como consequência da sazonalidade há uma grande variação sazonal na disponibilidade de produtos ovinos e respetivos preços (Chemineau *et al.*, 2008, 2010). A necessidade de satisfazer as exigências dos mercados, as disponibilidades naturais de pastagens e de forragens e as limitações impostas pela sazonalidade reprodutiva determinam a necessidade de controlar a atividade reprodutiva tendo em vista a otimização das taxas reprodutivas (Cabrera *et al.*, 2019).

Na bibliografia existem múltiplos trabalhos relativos a diferentes modos de ultrapassar a sazonalidade reprodutiva. Em todos eles procura-se controlar a ciclicidade das ovelhas aplicando diferentes técnicas de manejo, como os tratamentos luminosos, o *flushing* e o “efeito macho” e/ou utilizando implantes subcutâneos de melatonina, dispositivos vaginais com P₄ ou progestagénios e/ou prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) (Martin, 1995, Azevedo *et al.*, 2006; e Abecia *et al.*, 2012; citados por Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2020). A P₄/progestagénios é usada para prolongar a fase lútea do ciclo éstrico e a PGF_{2α} (ou seus análogos) para promover a luteólise (Türk *et al.*, 2008 e Abecia *et al.*, 2012).

Os protocolos de controlo reprodutivo baseados na P₄ utilizam, normalmente, um dispositivo vaginal – CIDR (Rosasco *et al.*, 2019). Este permite controlar mecanismos fisiológicos (como o da ovulação) e as respostas comportamentais (Rosasco *et al.*, 2019).

A administração de gonadotrofinas hipofisárias ou coriónicas nos protocolos de controlo da atividade reprodutiva promove os eventos pré-ovulatórios (fase folicular), a ovulação e a função lútea (Azevedo *et al.*, 2006, Abecia *et al.*, 2012 e Mohamad *et al.*, 2014). Nas primeiras semanas de gestação das ovelhas, uma função lútea inadequada determina uma elevada taxa de mortalidade embrionária e uma reduzida taxa de fertilidade (Bolet, 1986 e Nancarrow, 1994; citados por Fernandez *et al.*, 2018).

A IA é uma técnica comumente utilizada em programas de melhoramento, uma vez que permite saber quem são os progenitores, usar o sêmen de um macho melhorador num maior número de fêmeas, ultrapassar os constrangimentos temporais e espaciais da atividade reprodutiva e acelerar o progresso genético (Valentim *et al.*, 2016b). Em Portugal, a IA dos rebanhos de ovinos continua a ser uma prática pouco difundida, fundamentalmente, por ser pouco conhecida entre os criadores e porque não existem estruturas montadas capazes de prestar este serviço (Ferra e Serrano, 2006, Küçük *et al.*, 2014 e Palacios, 2010). Do ponto de vista técnico, os principais constrangimentos à disseminação da técnica de IA estão relacionados com as dificuldades na criopreservação do sêmen e na ultrapassagem das pregas do canal cervical (Ferra e Serrano, 2006, Küçük *et al.*, 2014 e Palacios, 2010).

A IA pós-identificação do cio é um procedimento pouco recomendado, porque a deteção das ovelhas em cio requer a presença de rufiões (as ovelhas são muito discretas nas manifestações fisiológicas e comportamentais do cio), um maneio mais trabalhoso e um maior dispêndio de tempo (Biehl *et al.*, 2017). Consequentemente, os custos associados a esta prática são elevados (Biehl *et al.*, 2017). Neste sentido, a IA deve ser feita a tempo fixo (FTAI), ou seja, algumas horas pós-término do tratamento de controlo da atividade reprodutiva (Valentim *et al.*, 2016b e Martinez *et al.*, 2018). Por outro lado, é importante criar as condições necessárias à aplicação dos procedimentos técnicos, sem causar grandes níveis de *stress* aos animais e às pessoas envolvidas (Valentim *et al.*, 2016b).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia da aplicação de dois tratamentos progestagénicos curtos (FGA *vs.* CIDR) + eCG (500 UI) no controlo da atividade reprodutiva de ovelhas cruzadas Avassi x Sarda. Simultaneamente procurou-se avaliar os efeitos do carneiro e do inseminador – inexperiente *vs.* experiente – sobre a taxa de fertilidade pós inseminação com sêmen refrigerado.

I- Revisão Bibliográfica

1. Raças Awassi e Sarda

A raça Awassi é a única raça autóctone ovina da Jordânia (Galal *et al.*, 2008 e Gürsoy, 2011). É conhecida pela sua boa adaptação a diferentes condições ambientais (Galal *et al.*, 2008 e Gürsoy, 2011). Por este motivo está espalhada por muitos países asiáticos e africanos (Galal *et al.*, 2008 e Gürsoy, 2011). A sua produtividade varia em função das condições ambientais e da sua variedade (Galal *et al.*, 2008). As ovelhas Awassi melhoradas israelitas são as mais pesadas e as que produzem mais leite (Galal *et al.*, 2008). No Médio Oriente e noutras partes do mundo, particularmente, nos países do Leste Europeu, são usadas na produção de carne e de lã (Pollott e Gootwine, 2004 e Galal *et al.*, 2008).

As ovelhas Awassi adaptam-se bem a condições extremas, como a escassez de alimento e ao calor, conseguem percorrer longas distâncias em pastoreio e possuem um forte instinto gregário e uma boa resistência a doenças e a parasitas (Gürsoy, 2005 e Kridli *et al.*, 2007c). Todavia é uma raça pouco prolífera (1,05 borregos/ovelha) e que tende a atingir a puberdade mais tarde do que muitas outras raças ovinas – 8 e 9 meses de idade –, respetivamente, nos machos e nas fêmeas (quando nascidas no inverno) (Abdullah *et al.*, 2002 e Al-Molla e Kridli, 2003).

As ovelhas Awassi podem pesar 45-55 kg (**Figura 1**) (Degen e Benjamin 2003 e Ozyurtlu *et al.*, 2010). Por seu turno, os carneiros podem pesar 60-90 kg (Degen e Benjamin 2003 e Ozyurtlu *et al.*, 2010). À nascença, um cordeiro Awassi pode pesar 5 kg, mas nos partos gemelares cada indivíduo pode pesar menos 20% deste valor (Zarkawi *et al.*, 1999). Os ovinos Awassi têm uma cauda característica. Nas ovelhas, esta tem cerca de 18 cm de comprimento, 16 cm de largura e pode atingir um peso de 6 kg (Hailat, 2005, Galal *et al.*, 2008 e Talafha e Ababneh, 2011). Nos carneiros, estas medidas podem ser o dobro (Hailat, 2005, Galal *et al.*, 2008 e Talafha e Ababneh, 2011). A cauda é constituída maioritariamente por gordura e forma dois lóbulos separados por uma fenda na sua parte inferior (Hailat, 2005, Galal *et al.*, 2008 e Talafha e Ababneh, 2011). A gordura presente na cauda é utilizada como reserva de energia, a ser usada em momentos de carência alimentar (Hailat, 2005, Galal *et al.*, 2008, Talafha e Ababneh, 2011). Nos sistemas de exploração extensivos, uma ovelha Awassi produz cerca de 40-60 kg de leite, em 150 dias de lactação (Hailat, 2005). Nos sistemas de exploração intensivos, a produção de leite varia entre 70-80 kg, nos mesmos 150 dias de lactação (Hailat, 2005).



Figura 1. Ovelhas da raça Awassi (1).

A estação reprodutiva das ovelhas Awassi inicia-se em abril e estende-se até setembro (Zarkawi, 1997 e Abu Zanat *et al.*, 2005). Contudo, a época de cobrições concentra-se normalmente entre finais de junho e início de setembro (Zarkawi, 1997 e Abu Zanat *et al.*, 2005). O ciclo éstrico dura entre 15 e 20 dias (média de 17 dias). O cio tem uma duração média de 29 horas, mas pode atingir as 59 horas na estação reprodutiva (Talaflha e Ababneh, 2011). Porque o cio tende a ser longo, a ovulação ocorrer normalmente na fase final do cio ou mesmo após o seu término (Talaflha e Ababneh, 2011). Os carneiros Awassi podem ser utilizados como reprodutores durante todo o ano, uma vez que não apresentam uma variação significativa do comportamento sexual e da produção quantitativa e qualitativa de sêmen (Salhab *et al.*, 2003 e Tabbaa *et al.*, 2006).

A raça Sarda é uma raça de ovinos originária da ilha italiana da Sardenha (**Figura 2**) (Ordóñez, 1966, citado por Mateus, 2014). São animais de dupla aptidão – carne e leite (Ordóñez, 1966, citado por Mateus, 2014). São muito adaptáveis a diferentes condições orográficas. Podem ser explorados em planícies, em terrenos pouco inclinados (colinas) ou em montanhas (Ordóñez, 1966, citado por Mateus, 2014). As ovelhas pesam entre 45-55 kg e as suas principais características morfológicas são: cabeça com um perfil reto, garupa ligeiramente caída, cauda comprida, dorso reto e membros robustos e compridos (Ordóñez, 1966, citado por Mateus, 2014). Os machos atingem um peso corporal de 80 kg e têm um perfil ligeiramente acarneirado (Ordóñez, 1966, citado por Mateus, 2014).



Figura 2. Ovelha da raça Sarda (2).

2. Fisiologia Reprodutiva na Ovelha

2.1. Sazonalidade Reprodutiva

Nos ovinos, a atividade reprodutiva é influenciada pela ação conjunta de fatores genéticos, individuais, fisiológicos, ambientais e sociais (**Figura 3**) (Baril *et al.*, 1993, Hafez e Hafez, 2004 e Morello e Chemineau, 2004). São animais poliétricos sazonais, cuja duração da estação reprodutiva varia inversamente à da latitude onde são explorados (Chemineau *et al.*, 1992, Valentim, 2004, Pérez-Clariget e Porras, 2008 e Fonseca *et al.*, 2010). O fotoperíodo (duração do período diário de luz) é o principal fator ambiental regulador da sazonalidade reprodutiva (Chemineau *et al.*, 1992, Baril *et al.*, 1993, Valentim, 2004, Pérez-Clariget e Porras, 2008, Fonseca *et al.*, 2010 e Santolaria *et al.*, 2011). Nos ovinos originários das regiões temperadas do globo terrestre, o ciclo reprodutivo inclui uma estação reprodutiva e uma estação de anestro (Correia, 1996, Morello e Chemineau, 2004, Pérez-Clariget e Porras, 2008, Fonseca *et al.*, 2010, Bartlewski *et al.*, 2011 e Valentim *et al.*, 2015a). A estação reprodutiva ocorre quando o fotoperíodo é decrescente ou é de “dias curtos” (fim do verão e outono) (Valentim *et al.*, 2006, Yacoub *et al.*, 2011 e Valentim *et al.*, 2015a). Deste modo, os partos ocorrem na altura do ano em que as condições ambientais são mais favoráveis (primavera) (Valentim *et al.*, 2006, Yacoub *et al.*, 2011 e Valentim *et al.*, 2015a).

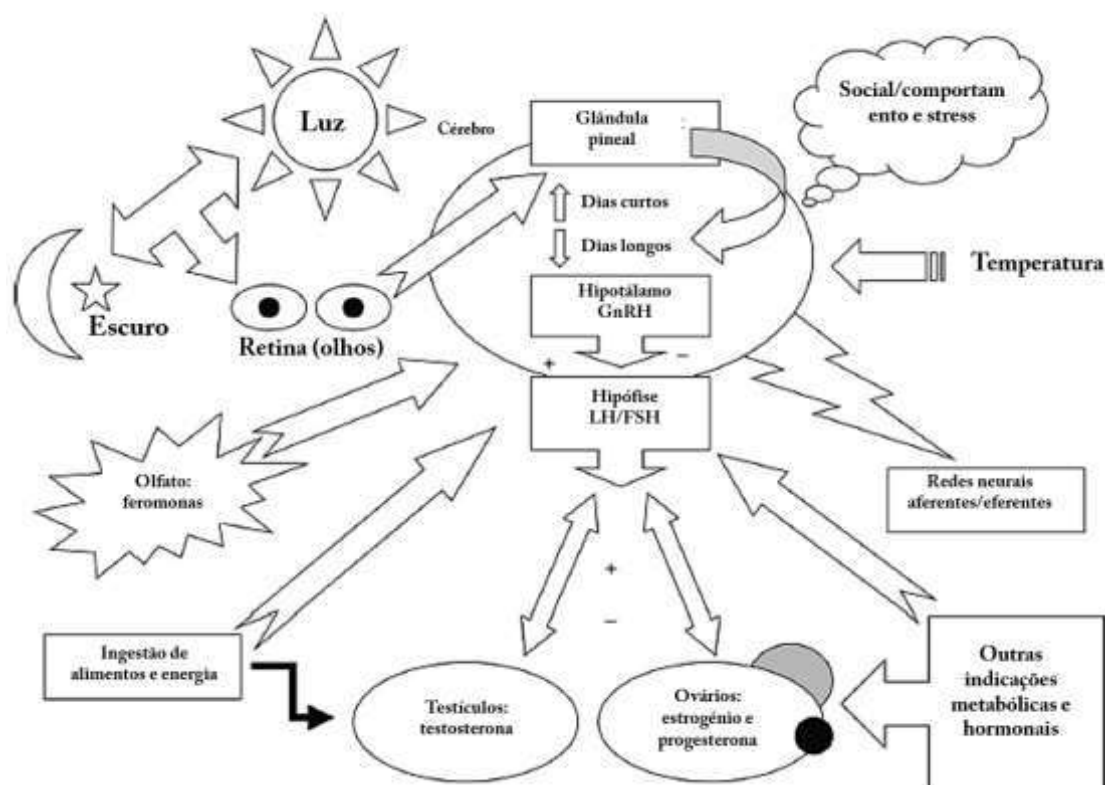


Figura 3. Integração dos sinais endógenos e exógenos nas vias neuroendócrinas que regulam a atividade reprodutiva sazonal (Adaptado de Willard, 2011).

Na região mediterrânea, a sazonalidade reprodutiva não é muito marcada, pelo que a estação reprodutiva tende a começar próximo do solstício de verão e a de anestro logo após o solstício de inverno (Valentim *et al.*, 2015a). Nas regiões tropicais, a estação reprodutiva pode estende-se ao longo de todo o ano, embora as alterações sazonais da pluviosidade, que condicionam as disponibilidades naturais de alimento, possam condicionar a atividade reprodutiva (Willard, 2011). Os machos são menos afetados pela sazonalidade do que as fêmeas (Willard, 2011). Ainda assim podem observar-se alterações na secreção de testosterona, no tamanho dos testículos e na espermatogénese (Willard, 2011 e Valentim, 2014).

Na estação de anestro, assim como no início e no fim da estação reprodutiva, a atividade ovárica tende a ser deficitária (Correia, 1996, Valentim *et al.*, 2006b e Venâncio, 2012). São mais frequentes os casos de “ovulação silenciosa” (ovulação não acompanhada de cio) e de subestro (cio não acompanhado de ovulação) e os ciclos éstricos de duração anormal (Correia, 1996, Valentim *et al.*, 2006b e Venâncio, 2012). A “ovulação silenciosa” e os ciclos éstricos de duração anormal são ditados pela carência em P₄ (Hall *et al.*, 1986, Valentim *et al.*, 2006b e Venâncio, 2012). Por seu turno, o subestro resulta da falha do processo ovulatório causada,

normalmente, por um crescimento deficitário dos folículos e consequentemente da secreção de estrogénios (Venâncio, 2012).

2.2. Ciclo Éstrico

A ovelha tem um ciclo éstrico (intervalo de tempo entre dois cios consecutivos) de aproximadamente 17 dias (Pérez-Clariget e Porras, 2008 e Forcada, 2010). Contudo, este pode variar em função da raça, da idade, do estado fisiológico, das condições ambientais, do estado de saúde, entre outros (Baril *et al.*, 1993, Bettencourt, 1999, Morello e Chemineau, 2004, Pérez-Clariget e Porras, 2008 e Dendena, 2017). Este ciclo é caracterizado pela presença de diferentes estruturas ováricas e por alterações endócrinas específicas (Dunlap, 2018). O ciclo éstrico pode ser dividido em fase folicular e em fase lútea (Baril *et al.*, 1993 e Morello e Chemineau, 2004). A fase folicular dura cerca de 3-4 dias e é marcada pelo crescimento dos folículos e pela secreção de quantidades crescentes de estrogénios (McDonald, 1991, Fernández Abella, 1999 e Forcada, 2010). A fase lútea, com uma duração de 12-14 dias, surge após a ovulação e é marcada pela formação e manutenção do corpo lúteo (CL) e a secreção de P₄ (Talafta e Ababneh, 2011).

A fase folicular inicia-se normalmente com a destruição do CL do ciclo anterior e termina com a ovulação (Morello e Chemineau, 2004). Está dividida em dois períodos: o proestro e o estro (Morello e Chemineau, 2004). O proestro tem a duração de 2-5 dias e caracteriza-se pela diminuição da secreção de P₄. Como consequência, ocorrer um aumento da secreção de Hormona Folículo-Estimulante (FSH) e de Hormona Luteinizante (LH) (Morello e Chemineau, 2004). A primeira determina o crescimento folicular (foliculogénese) a segunda a maturação dos oócitos, a ovulação e formação do CL (**Figura 4**) (Morello e Chemineau, 2004).

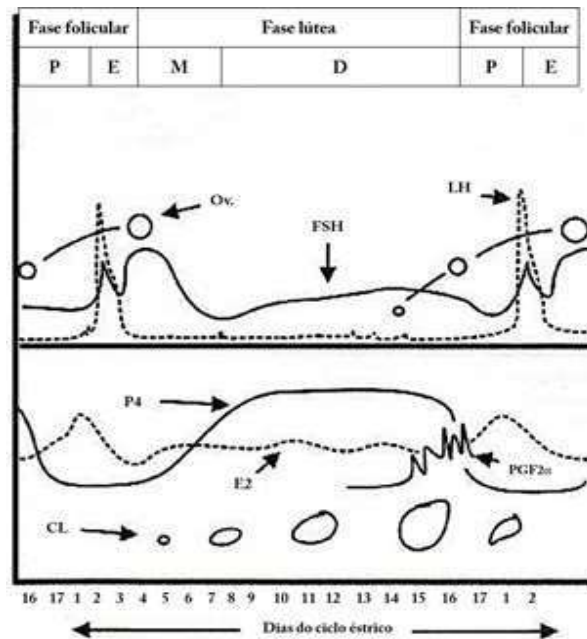


Figura 4. Perfis de secreções de gonadotrofinas hipofisárias – FSH e LH –, de esteroides sexuais – progesterona (P₄), estradiol (E₂) –, e de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) ao longo do ciclo estrico (Adaptado de Morello e Chemineau, 2004). São indicados outros eventos e estruturas como a ovulação (Ov.) e o corpo lúteo (CL) e as diferentes fases do ciclo estrico: proestro (P), estro (E), metaestro (M) e diestro (D).

No estro, os folículos em crescimento produzem doses crescentes de estrogénios. É a fase de plenitude funcional dos folículos (Morello e Chemineau, 2004). O aumento da secreção de estradiol (E₂) determina o comportamento de cio, que dura, em média 30 horas, mas que pode variar entre 24 e 48 horas (Morello e Chemineau, 2004). Este caracteriza-se por alterações do trato genital (edema, rubor e corrimento vaginal) e comportamentais (aceitação do cortejamento e imobilização perante a monta) (Morello e Chemineau, 2004, Pérez-Clariget e Porras, 2008 e Forcada, 2010).

Os folículos dominantes presentes no ovário produzem níveis circulantes de estrogénios capazes de exercer uma retroação positiva sobre a secreção de Hormona Libertadora de Gonadotropinas (GnRH)/LH (Dunlap, 2018). Nessa altura ocorre a maturação dos oócitos e a ovulação (Dunlap, 2018). Posteriormente, o folículo transforma-se num corpo hemorrágico e começa a luteinizar-se, ou seja, a transformar-se num CL ou corpo amarelo responsável pela produção de P₄ (Dunlap, 2018).

A fase lútea divide-se igualmente em dois períodos: o metaestro e o diestro (Sebastian Lopez, 1989, Baril *et al.*, 1993 e Morello e Chemineau, 2004). O metaestro tem uma duração de 2-4 dia e caracteriza-se pelo processo de formação do CL pós-ovulação (Morello e Chemineau, 2004). No CL, ainda que em minoria, existem pequenas células que são sensíveis à ação da LH (Dunlap, 2018). O diestro é o período mais longo de todo o ciclo estrico (4-11 dias)

e caracterizase pela produção de P4, sintetizada a partir do CL (**Figura 4**) (Morello e Chemineau, 2004). Se a ovelha ficar gestante, o CL permanecerá ativo (Dunlap, 2018). Caso contrário será destruído (luteólise) pela PGF_{2α} produzida pelo endométrio uterino (Dunlap, 2018).

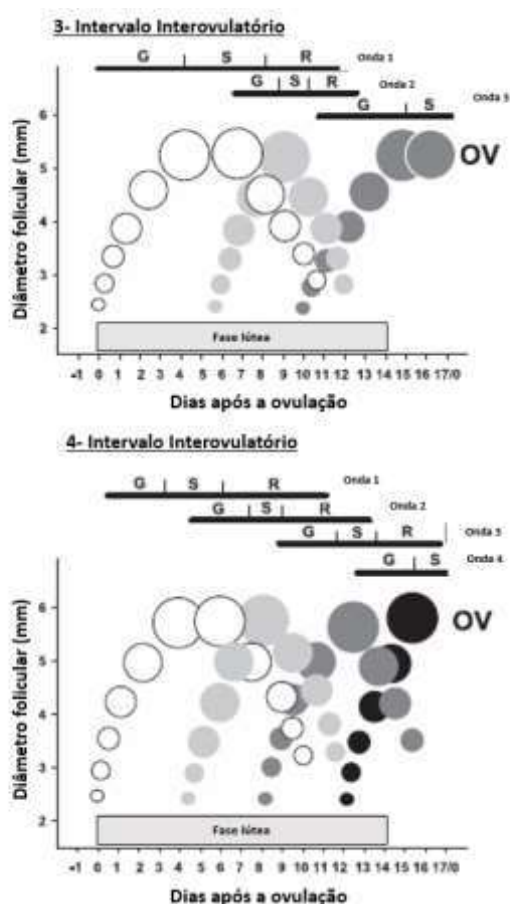


Figura 5. Representação esquemática do crescimento de folículos antrais ováricos com 2-3 mm de diâmetro, no decurso do ciclo éstrico da ovelha (Adaptado de Bartlewski *et al.*, 2011). O maior folículo cresce até um diâmetro de ≥ 5 mm, antes de entrar em regressão ou ovulação (OV), emergem numa sucessão ordenada de 3-4 ondas foliculares. É ainda indicada a duração aproximada das fases de crescimento (G), estática (S) e de regressão (R) dos maiores folículos de cada onda.

Nos ovinos, durante o ciclo éstrico, a LH não é segregada de uma forma contínua, mas por pulsos ou episódios (Baril *et al.*, 1993, Binkley, 1995, Morello e Chemineau, 2004, Simonetti, 2008 e Bartlewski *et al.*, 2011). Cada pulso corresponde à elevação dos níveis circulantes desta hormona, por um breve período de tempo, seguido do seu declínio até níveis basais, que se mantêm até ao pulso seguinte (Baril *et al.*, 1993, Binkley, 1995 e Simonetti, 2008). A frequência e a amplitude dos pulsos de LH variam ao longo do ciclo éstrico (Simonetti, 2008). Por seu turno, a secreção da FSH segue um padrão de “ondas” coincidente com as ondas foliculares (**Figura 5**) (Bister e Paquay, 1983, Baril *et al.*, 1993, Morello e Chemineau, 2004 e

Forcada, 2010). O padrão predominante é de 3-4 ondas foliculares, que emergem por volta dos dias 0, 6 e 11 (Salamonsen *et al.*, 1973, Viñoles *et al.*, 2000, Forcada, 2010) ou dos dias 0, 5, 9, 12 do ciclo éstrico (Bartlewski *et al.*, 2011). Nas ovelhas que apresentam 3 ondas foliculares, as duas primeiras terminam em atresia folicular e a última dará lugar ao folículo dominante (Forcada, 2010). Em algumas raças podem ser observadas 2-5 ondas foliculares (Forcada, 2010).

3. Controlo da Atividade Reprodutiva

Nos pequenos ruminantes, a IA deve ser realizada após o controlo reprodutivo das fêmeas a inseminar (Palacios, 2010 e Fleisch *et al.*, 2012). Nestes animais não faz qualquer sentido prático e económico inseminar as fêmeas à medida que apresentam cio. Na verdade, o controlo da atividade reprodutiva de um grupo de fêmeas permite organizar o manejo de toda a exploração, reduzir os períodos improdutivo, programar a época de parição, ajustar a produção aos ciclos sazonais de procura de produtos de origem animal, criar lotes uniformes de animais para venda e aumentar a produtividade (Steyn, 2003, Freitas e Rubianes, 2004, Garcia *et al.*, 2004, Azevedo *et al.*, 2006, Palacios, 2010, Abecia *et al.*, 2012 e Valentim *et al.*, 2015a).

O controlo da atividade reprodutiva pode ser feito sincronizando (estação reprodutiva) ou induzindo (estação de anestro) a atividade ovárica (Nogueira *et al.*, 2011 e Dendena, 2017). A resposta tende a ser inferior na estação de anestro. Nesta estação do ciclo reprodutivo, os tratamentos com P₄/progestagénios pré-sensibilizam o eixo hipotálamo-hipófise-gónadas (Azevedo *et al.*, 2006, Chemineau *et al.*, 2006, Maitra *et al.*, 2014 e Parhar *et al.*, 2016) e melhoram a atividade ovárica, as manifestações de cio, o transporte de espermatozoides no trato genital feminino e a função lútea (Martin, 1984, Legan *et al.*, 1985, Leyva *et al.*, 1998, Ravindra e Rawlings, 1997, Knights *et al.*, 2001, Becker, 2002, Azevedo *et al.*, 2006 e Driancourt, 2012). Nas ovelhas anéstricas, níveis circulantes adequados de P₄ aumentam a probabilidade de estas manifestarem cio e de apresentarem uma atividade ovárica normal (Turzillo *et al.*, 1998 e Harl, 2014; citados por Swelum *et al.*, 2018a).

3.1. Tratamentos com Progesterona/Progestagénios

Os progestagénios são substâncias sintéticas que mimetizam os efeitos biológicos da P₄ produzida pelo CL, inibindo a secreção da hormona GnRH/LH, as manifestações de cio e a ovulação e prolongando a fase lútea (Leyva *et al.*, 1998, Azevedo *et al.*, 2006, Simonetti *et al.*, 2008, Abecia *et al.*, 2012, Hashim *et al.*, 2013, Afonso, 2015, Valentim *et al.*, 2015b,

Mirshamsollahi, 2016 e Conradi, 2018). Na verdade, a sua ação biológica é superior à da P₄, pelo que são usados em doses inferiores (Romano, 1996 e Azevedo *et al.*, 2006). São rapidamente metabolizados porque têm uma semivida reduzida (Azevedo *et al.*, 2006), embora superior à da P₄ (Ritar *et al.*, 1990, citado por Leboeuf *et al.*, 2000).

Quando se inicia um tratamento com P₄/progestagénios desconhece-se a fase do ciclo éstrico em que cada fêmea se encontra (Leyva *et al.*, 1998). A exposição prolongada à P₄ (endógena ou exógena) ou seus análogos sintéticos (progestagénios) pode condicionar a secreção pulsátil de LH e mais tarde reduzir a eficácia do tratamento de controlo da atividade ovárica, com o consequente aumento dos problemas de fertilidade (Leyva *et al.*, 1998). A administração de P₄ ou seus análogos sintéticos alteram a secreção pré-ovulatória de E₂ e a secreção de P₄ por parte dos futuros CL (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2005 e Berlinguer *et al.*, 2007).

Os tratamentos com P₄/progestagénios implicam a colocação de diferentes dispositivos impregnados com estas hormonas na vagina (**Figura 6**) (Azevedo *et al.*, 2006 e Abecia *et al.*, 2012). Estas hormonas inibem o pico pré-ovulatório de GnRH/LH, ou seja, impedem a ocorrência da ovulação (Leyva *et al.*, 1998, Azevedo *et al.*, 2006 e Abecia *et al.*, 2012).

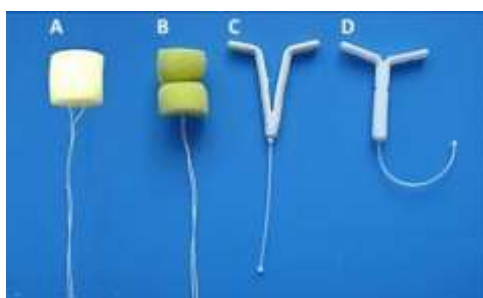


Figura 6. Dispositivos vaginais utilizados no controlo reprodutivo dos pequenos ruminantes; esponjas vaginais (A e B), DICO (C) e CIDR (D) (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2020).

Os progestagénios são veiculados por esponjas vaginais (Uribe-Velásquez *et al.*, 2009, Abecia *et al.*, 2012, Venâncio, 2012, Mateus, 2014, Afonso, 2015, Dias *et al.*, 2015, Santos-Neto *et al.*, 2015, Valentim *et al.*, 2015b, Dendena, 2017, Conradi, 2018 e Fornazari, 2018). Os mais utilizados são o acetato de medroxiprogesterona (MAP; 60 mg) e o acetato de fluorogestona (FGA; 20 mg) (Robinson, 1965, Romano, 1996, Ungerfeld e Rubianes, 2002, Zeleke *et al.*, 2005 e Abecia *et al.*, 2012). Estas duas moléculas são igualmente eficazes, embora o FGA tenha o dobro da potência do MAP e 25 vezes mais do que a da P₄ (Robinson, 1965, Romano, 1996, Ungerfeld e Rubianes, 2002, Zeleke *et al.*, 2005 e Abecia *et al.*, 2012). Nos dois primeiros dias pós-inserção das esponjas vaginais, a libertação de progestagénios é

elevada, mas tende a diminuir com o tempo (**Figura 7**) (Greyling *et al.*, 1994 e Ungerfeld e Rubianes, 2002, citados por Padilha, 2007). Estas hormonas determinam a atresia dos folículos de grandes dimensões e a posterior inibição do crescimento e da maturação folicular (Viñoles *et al.*, 2001, Driancourt, 2012 e Oliveira *et al.*, 2016a).

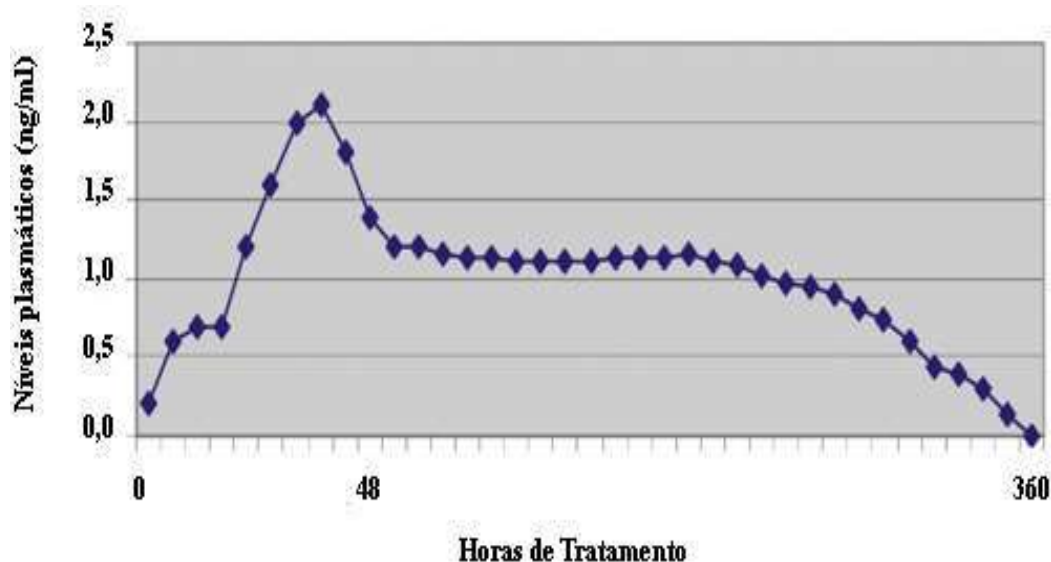


Figura 7. Variação temporal dos níveis plasmáticos médios de cronolona em ovelhas tratadas com Chronogest CR (Driancourt, 2012).

Outro tipo de dispositivos vaginais são o CIDR (Abecia *et al.*, 2012 e Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2020) e o DICO (*Caprine Ovine Intravaginal Device*) (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2020). Ambos estão impregnados com 0,3 g de P₄ (Abecia *et al.*, 2012 e Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2020). Estes dispositivos são muito eficazes no controlo da atividade reprodutiva e apresentam vantagens para a saúde do animal (Hamra *et al.*, 1986, 1989, Wheaton *et al.*, 1993 e dos Santos-Neto *et al.*, 2015, citados por Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2020). As esponjas vaginais são normalmente mais baratas do que os dispositivos vaginais de libertação controlada (Wheaton *et al.*, 1993).

Quando o CIDR ou o DICO são inseridos na vagina observa-se um rápido aumento dos níveis circulantes de P₄, atingindo-se os seus valores máximos 3 dias depois, após o que começam a diminuir gradualmente (**Figura 8**) (Wheaton *et al.*, 1993 e Abecia *et al.*, 2012). Após a sua remoção desencadeia-se um rápido aumento da secreção pulsátil de GnRH/LH (Leyva *et al.*, 1998 e Driancourt *et al.*, 2012). Os primeiros sinais de cio surgem em 24-48 horas e a ovulação ocorre 48-72 horas depois de terminado o tratamento (Azevedo *et al.*, 2006).



Figura 8. Curva temporal da liberação de progesterona a partir do CIDR e do DICO (Vilariño *et al.*, 2010).

3.1.1. Tratamentos Progestagênicos Longos

Os tratamentos longos com P₄/progestagênicos têm uma duração de 12-15 dias (Azevedo *et al.*, 2006 e Abecia *et al.* 2012). Na estação reprodutiva, os efeitos negativos da P₄/progestagênicos sobre o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (Leyva *et al.*, 1998, Azevedo *et al.*, 2006, Abecia *et al.*, 2012 e Bartlewski *et al.* 2017) e o crescimento folicular são superiores nos tratamentos longos do que nos tratamentos curtos (Menchaca e Rubianes 2004 e Gonzalez-Bulnes *et al.* 2005). Eles alteram a secreção de LH e afetam negativamente o desenvolvimento e a maturação dos folículos, podendo mesmo causar a sua atresia e o desenvolvimento de novos folículos ovulatórios (Nöel *et al.*, 1994 e Leyva *et al.*, 1998). Mais, no final do tratamento, os dispositivos vaginais libertam quantidades de P₄/progestagênicos muito reduzidas (sublúteas), incapazes de suprimir por completo a secreção de LH (Greyling *et al.*, 1994, Viñoles *et al.*, 2001, Vilariño *et al.*, 2013; e Diskin *et al.*, 2002; citados por Swelum *et al.*, 2018a). Daqui resulta um desenvolvimento folicular anormal e a formação de folículos persistentes, com oócitos envelhecidos. Consequentemente, após a ovulação, a taxa de fertilidade é reduzida (Johnson *et al.*, 1996, Ungerfeld e Rubianes, 1999 e Viñoles *et al.*, 1999, 2001).

Os tratamentos longos com esponjas vaginais aumentam a probabilidade de haver perdas de esponjas e tendem a alterar o ambiente vaginal, favorecendo o desenvolvimento de vaginites (Suarez *et al.*, 2006, Martins *et al.*, 2009 e Manes *et al.*, 2010). A presença de leucócitos, causada por uma infecção do epitélio vaginal, pode afetar negativamente a viabilidade dos espermatozoides e consequentemente a taxa de fertilidade (Suarez *et al.*, 2006). Para evitar o desenvolvimento de uma vaginite, alguns laboratórios aconselham a adição de antibiótico às esponjas vaginais (Viñoles *et al.*, 2011). O uso do CIDR/DICO parece reduzir as taxas de

vaginites, pois não absorve ou impede a saída de secreções vaginais (Motlomelo *et al.*, 2002 e Swelum e Alowaimer, 2015).

A realização de uma gestão profilática adequada é um bom princípio para atenuar os problemas causados por vaginites (Gatti *et al.*, 2011 e Vasconcelos *et al.*, 2016). A limpeza e a desinfecção da vulva e das áreas adjacentes, dos materiais utilizados na aplicação das esponjas/dispositivos e a aplicação local ou sistêmica de antibióticos são alguns dos procedimentos preventivos aconselhados (Gatti *et al.*, 2011 e Vasconcelos *et al.*, 2016). A utilização de antibióticos é cada vez menos aconselhável devido ao desenvolvimento de resistência por parte dos microrganismos a estes fármacos (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2020). A identificação destes problemas conduziu a alteração dos protocolos de controlo da atividade reprodutiva, nomeadamente, no que diz respeito à duração dos tratamentos (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2020).

3.1.2. Tratamentos Progestagénicos Curtos

A aplicação de tratamentos curtos com P₄/progestagénicos, por um período de 5-7 dias, parece resolver vários dos problemas causados pelos tratamentos longos com P₄/progestagénios (Menchaca e Rubianes 2004). Neste tipo de tratamento, o aumento dos níveis circulantes de P₄ ou seus análogos, induzidos pelos dispositivos vaginais, ocorre por um período de tempo inferior ao da duração da fase lútea do ciclo éstrico. Por este motivo, os tratamentos curtos com P₄/progestagénios têm de ser complementados com a injeção de PGF_{2α} ou seus análogos, quando da colocação ou da remoção dos dispositivos vaginais, a fim de induzir a lise do CL presente nalgumas fêmeas (**Figura 9**) (Menchaca e Rubianes, 2004, Letelier *et al.*, 2009 e Cox *et al.*, 2012). A maioria dos autores sugere que a administração de PGF_{2α} deve ser feita no início do tratamento, para evitar os efeitos negativos que esta hormona tem sobre o transporte, o armazenamento e a capacitação dos espermatozoides no trato genital feminino e a atividade ovárica e a ovulação (Azevedo *et al.*, 2006). A administração de PGF_{2α} tem como principais vantagens o facto de ser feita através de uma injeção intramuscular (menor tempo de manipulação das fêmeas, logo menos *stress*, maior bem-estar animal) e esta hormona ser rapidamente metabolizadas nos pulmões e no fígado, sem deixar praticamente qualquer resíduo químico (Azevedo *et al.*, 2006, De Rensis *et al.*, 2011 e Abecia *et al.*, 2012).

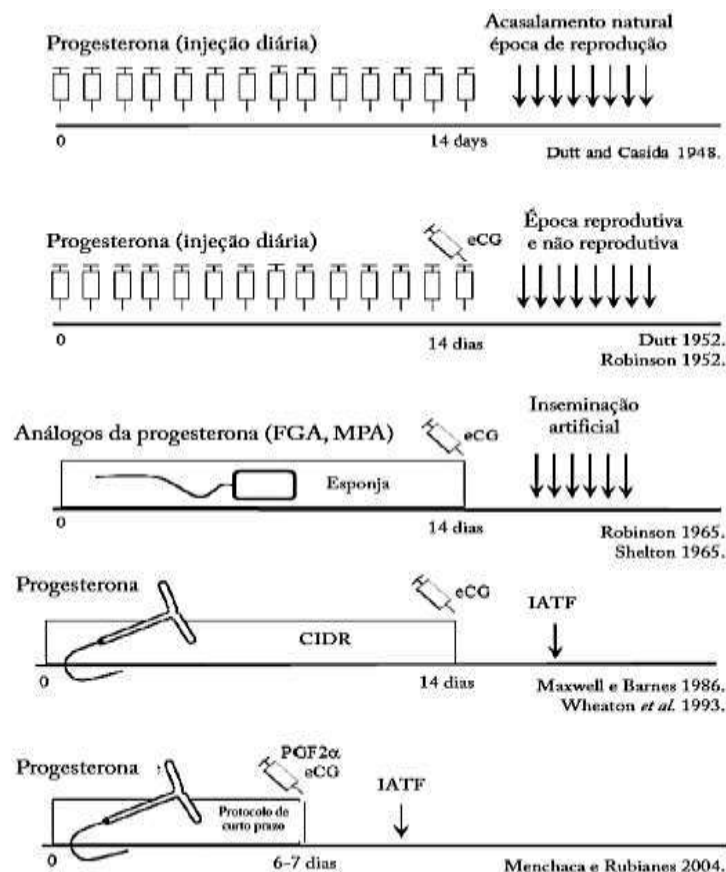


Figura 9. Evolução dos tratamentos com progestagênicos aplicados na ovelha nos últimos 70 anos (Adaptado de Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2020).

Na estação reprodutiva, quando se injeta PGF_{2α} nunca se sabe em que fase do ciclo éstrico é que as diferentes fêmeas se encontram (Rubianes *et al.*, 2003 e Abecia *et al.*, 2012). Neste sentido, a sincronização deaios tem de ser feita com recurso a duas injeções desta hormona, administradas com 9-11 dias de intervalo, só assim se pode ter a certeza de que o cio de todas as fêmeas ficou sincronizado (Rubianes *et al.*, 2003 e Abecia *et al.*, 2012). Na estação de anestro ou nos períodos de transição entre as estações reprodutiva e de anestro e vice-versa, os efeitos da PGF_{2α} são nulos (devido à inexistência um CL funcional) (Azevedo *et al.*, 2006 e Abecia *et al.*, 2012).

3.1.3. Tratamentos Progestagênicos Longos vs. Curtos

Os tratamentos longos com esponjas vaginais aumentam a probabilidade de haver perdas de esponjas e vaginites (Suárez *et al.*, 2006, Martins *et al.*, 2009, Manes *et al.*, 2010, Oliveira *et al.*, 2013, Manes *et al.*, 2014, Dias *et al.*, 2015, Manes *et al.*, 2016, Mirshamsollahi, 2016, Manes *et al.*, 2018 e Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2020). Os tratamentos com CIDR,

independentemente da sua duração, raramente resulta na perda destes dispositivos vaginais e em vaginites (Knights *et al.*, 2001, Nogueira *et al.*, 2011, Fleisch *et al.*, 2012 e Swelum *et al.*, 2018a).

Na estação reprodutiva, a aplicação de tratamentos curtos (6 dias) com P₄ (CIDR) ou com progestagénios (FGA) e eCG produzem taxas de fertilidade semelhantes (Fleisch *et al.*, 2012). Também os tratamentos longos com CIDR ou com FGA resultam em iguais taxas de fertilidade e de prolificidade (Ainsworth e Downey, 1986, citados por Yu *et al.*, 2018). Omontese *et al.* (2014) e Swelum *et al.* (2015) consideram que, mesmo que os tratamentos com CIDR e com FGA sejam semelhantes, no que diz respeito a sincronização dosaios, o CIDR promove taxas de fertilidade, de prolificidade e de fecundidade superiores às dos tratamentos com FGA.

Na estação de anestro, os tratamentos longos com P₄ ou com FGA e eCG resultam igualmente na promoção do cio e da ovulação e em elevadas taxas de fertilidade (Wheaton *et al.*, 1993, Romano 2004, Maeini *et al.*, 2007 e Ozyurtlu *et al.*, 2010). Segundo Ungerfeld e Rubianes (2002), os tratamentos curtos com FGA, MAP ou CIDR são igualmente eficazes a induzir o cio e produzem taxas de fertilidade iguais.

3.2. Indução da Ovulação

Nos tratamentos de controlo da atividade reprodutiva, as gonadotropinas exógenas podem ser usadas para estimular a ovulação ou promover superovulações (Azevedo *et al.*, 2006 e Karami *et al.*, 2012). Na estação reprodutiva, as gonadotropinas exógenas mais utilizadas são a FSH, a eCG e a Gonadotropina Coriônica humana (hCG) (Azevedo *et al.*, 2006 e Karami *et al.*, 2012). Na estação de anestro, a utilização destas hormonas é imprescindível. Nessa altura, as mais utilizadas são a FSH e a eCG (Azevedo *et al.*, 2006, Abecia e Forcada, 2010 e Karami *et al.*, 2012).

Os tratamentos com P₄/progestagénios, combinados com a administração de gonadotropinas, promovem a fase final do crescimento folicular e a ovulação (Windorski *et al.*, 2008 e Ozyurtlu *et al.*, 2010). Nas malatas ou na estação de anestro, a administração de gonadotropinas pode ser feita 48 ou 24 horas antes ou quando do término do tratamento de sincronização ou de indução da atividade ovárica. Neste sentido, a sua administração coincide com o aumento da secreção endógena de GnRH/LH e aumenta a possibilidade de ocorrer a ovulação (Azevedo *et al.*, 2006, Mohtar *et al.*, 2014, Ezzat *et al.*, 2016, Dendena, 2017, Conradi, 2018 e Fornazari, 2018). Na maioria das ovelhas, o cio surge cerca de 48 horas depois da administração de gonadotropinas exógenas (Wheaton *et al.*, 1993 e Powell *et al.*, 1996).

Nas ovelhas, a dose de eCG a administrar varia entre 250 a 750 UI. Esta depende da idade, da raça, da estação do ano, do resultado pretendido (ovulação ou superovulação), entre outros fatores (Abecia *et al.*, 2012). A eCG é uma hormona com ação no crescimento folicular, na produção de estrogénios e na indução da ovulação (Mohamad *et al.*, 2014). Nas primeiras semanas de gestação, a P₄ produzida pelo CL é essencial à implantação e à placentação (Kittok *et al.*, 1983 e Megan *et al.*, 2015, citados por Fernandez *et al.*, 2017). No sentido de aumentar a taxa de sobrevivência dos embriões, alguns autores aconselham a aplicação de tratamentos que melhoram a função lútea e a secreção de P₄. Para o efeito são administradas hormonas luteotróficas, como a GnRH ou a hCG, na fase lútea (Farin *et al.*, 1988, Nephew *et al.*, 1994, Ishida *et al.*, 1999 e Cam e Kuran, 2004, citados por Fernandez *et al.*, 2017). Todavia, os resultados têm sido muito variáveis (Fernandez *et al.*, 2017).

O uso frequente de gonadotropinas coriónicas pode induzir a formação de anticorpos específicos, o que origina um estado refratário às mesmas e consequentemente uma diminuição da taxa de fertilidade (Motlomelo *et al.*, 2002, Maurel *et al.*, 2003, Azevedo *et al.*, 2006 e Martemucci e D'Alessandro, 2011).

4. Inseminação Artificial

A IA é uma técnica reprodutiva que consiste na colocação, de modo artificial, de sémen no trato genital feminino (Robertson, 2005, Granados *et al.*, 2006, Morrell, 2011 e Valentim *et al.*, 2016). Começou por ser desenvolvida para prevenir a transmissão de doenças sexuais (Alvares *et al.*, 2015, Hernández Ballesteros *et al.*, 2015 e Abecia *et al.*, 2017). Hoje, porque permite utilizar sémen de machos melhoradores, vivos, temporariamente indisponíveis (lesões), mortos ou localizados a grandes distâncias, é uma potente ferramenta na promoção do valor genético dos efetivos, na melhoria das taxas produtivas e reprodutivas e consequentemente da rentabilidade das explorações (Granados *et al.*, 2006, Alvares *et al.*, 2015 e Hernández Ballesteros *et al.*, 2015).

Nos ovinos, a IA pode ser feita depois de identificar as ovelhas em cio ou a tempo fixo. Nas explorações comerciais, a deteção de cios é uma prática inviável (Gibbons *et al.*, 2019). Os tratamentos hormonais anteriormente apresentados permitem induzir ou sincronizar, de forma relativamente concentrada, a atividade reprodutiva de um grupo de ovelhas, garantindo boas taxas de fertilidade aparente e possibilitando a FTAI (Gibbons *et al.*, 2019). Outra vantagem da aplicação dos tratamentos de controlo reprodutivo é estimar a data de ocorrência dos partos e conseguir uma boa gestão da época de parição (Faigl *et al.*, 2012).

A escolha da dose de sémen a utilizar na inseminação é um parâmetro fundamental. Essa decisão vai ser tomada tendo em conta a via de inseminação que vai ser utilizada e de como o sémen é tratado e armazenado (Aisen, 2004b e Tsakmakidis, 2010).

4.1. Cérvix

4.1.1. Tamanho e Forma do Cérvix

Nas ovelhas, o cérvix é composto maioritariamente por tecido fibroso e por tecido conjuntivo (Cruz Jr, 2006). Possui ainda uma pequena proporção de tecido muscular, com uma forma tubular longo (Cruz Jr, 2006). Nas ovelhas é o principal fator limitante da difusão da prática da IA. É a primeira grande barreira à progressão dos espermatozoides no trato genital feminino (Moses *et al.*, 1997, Salamon e Maxwell, 2000, Granados *et al.*, 2006; e Leethongdee *et al.*, 2007; citado por Moura *et al.*, 2011). Esta progressão é dificultada pela presença de 4-7 pregas (ou anéis) cervicais (**Figura 10**) (Ferra e Serrano, 2006). As pregas cervicais não estão concentricamente alinhadas e as duas pregas mais caudais possuem um diâmetro mais estreito (McKusick *et al.*, 1998, Ferra e Sereno, 2006, Leethongdee *et al.*, 2007, Lima, 2010 e Candappa e Bartlewski, 2011). Estas características anatómicas dificultam a passagem do pistolete de inseminação e impedem a deposição profunda do sémen (Kershaw *et al.*, 2005).

Na ovelha, o comprimento do cérvix varia entre 5,7 e 10 cm. Esta variação resulta da raça, da idade, do número de partos, do estado fisiológico e da fase do ciclo éstrico (Abusineina, 1969, Halbert *et al.*, 1990 e Kaabi *et al.*, 2006; citados por Moura *et al.*, 2011). Ax *et al.* (2004) recomendam mesmo o uso deste parâmetro na seleção das ovelhas a inseminar.

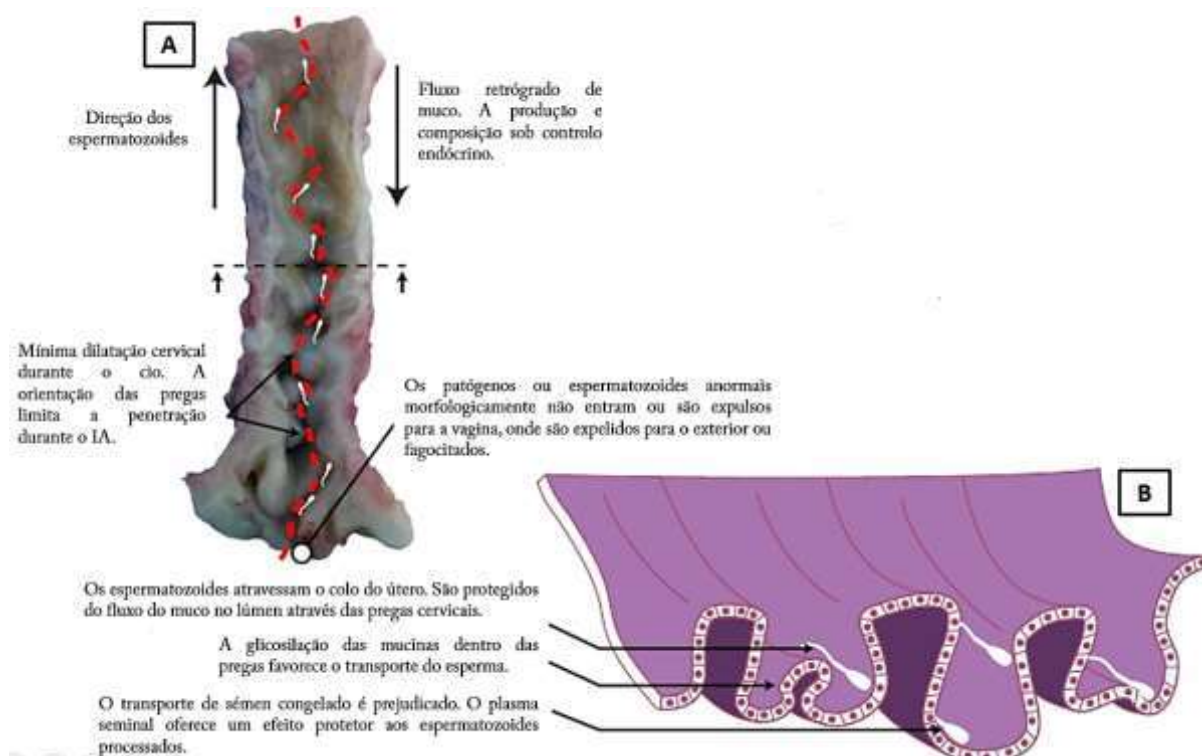


Figura 10. Representação da anatomia do canal cervical da ovelha (A) e das pregas cervicais (B) (Adaptado de Fair *et al.*, 2019). São detalhados alguns dos principais processos fisiológicos que regulam o transporte dos espermatozoides ao longo desta estrutura. Não está à escala.

4.1.2. Os Externo

Os cervical externo projeta-se para dentro da porção cranial da vagina e é coberto por uma ou mais pregas cervicais (Moura *et al.*, 2011). Pode ter várias formas, que diferem de fêmea para fêmea (Moura *et al.*, 2011). Nos ovinos podem ser identificados 5 tipos morfológicos de Os externo: bico de pato (duas pregas opostas), lisa, roseta (conjunto de pregas), papila (forma de espiral) e “flap” ou aba (com apenas uma prega) (Figura 11) (Kershaw *et al.*, 2005). Nas ovelhas mais velhas e nas múltiparas, o tipo roseta é o mais comum (Kershaw *et al.*, 2005). De acordo com Kershaw *et al.* (2005), Os cervical externo pode sofrer alterações anatómicas com o parto, nomeadamente devido ao processo de cicatrização. Estas modificações resultam do prolapso do primeiro anel cervical caudal (Kershaw *et al.*, 2005).

A penetrabilidade do cérvix é afetada pela fase do ciclo éstrico em que a ovelha se encontra, sendo que o maior grau de relaxamento é atingido durante a fase de estro (Sayre e Lewis, 1996, McKusick *et al.*, 1998, Kershaw *et al.*, 2005, El-Shahat e Alsafy, 2009, Maia, 2010 e Leão, 2017). Este processo de relaxamento envolve as hormonas P₄, E₂ e oxitocina produzidas no decurso de eventos peri-ovulatórios (Leethongdee *et al.*, 2007). Também a

secreção máxima de ácido hialurônico, que é atingida quando ocorre o pico pré-ovulatório de LH, ajuda a promover um certo relaxamento do cérvix e facilita o transporte dos espermatozoides através do canal cervical (Perry *et al.*, 2010).



Figura 11. Morfologia da abertura cervical externa das ovelhas, segundo classificação proposta por Halbert *et al.* (1990) e modificada por Kershaw *et al.* (2005). (A) Bico de pato, (B) Fenda, (C) Roseta, (E) “Flap” ou aba (Adaptado de Kershaw *et al.*, 2005 e Aral, Temamoğullar e Aral, 2011).

4.2. Reprodutores a Utilizar na IA

O sucesso da IA depende muito da escolha dos reprodutores (machos e fêmeas) (Russel, 1991 e David *et al.*, 2015). Na seleção dos carneiros deve-se ter em conta: o seu valor genético, o estado de saúde, a idade, as características seminais, o comportamento sexual e o manejo sanitário (Russel, 1991 e David *et al.*, 2015). Adicionalmente, estes devem ter bons aprumos, dois testículos simétricos e ovoides, localizados na cavidade escrotal, e um pénis sem anomalias (Baril *et al.*, 1993 e Maia, 2010).

As ovelhas devem ser saudáveis e não apresentar qualquer problema reprodutivo (Russel, 1991). Nunca utilizar ovelhas que não ficaram gestantes na época de cobertura anterior (Russel, 1991). Também não devem ser utilizadas ovelhas paridas há menos de 25-35 dias (Mateus *et al.*, 2016). O grupo de ovelhas a inseminar deve ser homogêneo, no que diz respeito ao desenvolvimento reprodutivo e fisiológico (Russel, 1991). Os resultados da IA tendem a ser piores nas malatas e nas ovelhas mais velhas (> 6-8 anos de idade) (Palacios, 2010 e Valentim *et al.*, 2016a). Um bom manejo alimentar melhora o sucesso da IA. No mesmo sentido, a condição corporal (CC) afeta a taxa de fertilidade aparente pós-IA (Russel, 1991 e David *et al.*, 2015). Os melhores resultados são obtidos quando a CC é de 3,0-4,0 pontos (Russel, 1991 e David *et al.*, 2015).

4.3. Sémen

O sémen de carneiro é constituído por duas frações: o plasma seminal e os espermatozoides, constituindo estes últimos cerca de 30% do volume total (Gonçalves *et al.*, 2008). O plasma seminal é uma mistura de fluidos produzidos nos testículos, nos epidídimos, nos canais deferentes e nas glândulas anexas (Cebrián *et al.*, 2010a, Maia, 2010 e Leão, 2017). É um meio neutro e isotónico, com inúmeras substâncias (frutose, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido glutâmico, inositol, sódio, potássio, cálcio, fosfolípidos, prostaglandinas e proteínas) que nutrem e protegem os espermatozoides das alterações do meio, principalmente do pH e da pressão osmótica (Lima, 2010, Maia, 2010 e Leão, 2017). Por outro lado, o plasma seminal desempenha um papel ativo no trato genital feminino, através da ação de várias hormonas, enzimas, proteínas, lípidos e metabolitos (Troedsson *et al.*, 2005 e Ledesma *et al.*, 2016).

A qualidade do sémen é determinada através da avaliação das características qualitativas e quantitativas do ejaculado (volume, cor, aspeto, concentração espermática, motilidade, espermatozoides vivos, espermatozoides normais, entre outros parâmetros) (Ibrahim, 1997 e Palacios, 2010). A cor do sémen do carneiro é normalmente esbranquiçada e considera-se que existe alguma anormalidade quando apresente colorações e cheiros fora do comum. Assim, por exemplo, a cor rosada indica a presença de sangue ou a cor amarelada pode indicar que o sémen está contaminado com urina (Bettencourt, 1999 e Romão, 2002). O volume de ejaculado no carneiro oscila, normalmente, entre os 0,3-3,0 ml (Mazariegos *et al.*, 2012). A concentração espermática e a motilidade são geralmente elevadas (Baril *et al.*, 1993, Valentim, 2004, Bicudo *et al.*, 2005, Porras, 2008, Lima, 2010, Maia, 2010 e Mazariegos *et al.*, 2012). Os valores da concentração espermática podem variar entre os 0,7-6,0 milhares de milhões de espermatozoides/ml (Steyn, 2003). Estes parâmetros podem ser influenciados por vários fatores, como a raça, fatores genéticos, ambientais, sociais e a técnica e a frequência da recolha dos ejaculados (Gordon, 1997, El-Alamy *et al.*, 2001, Johnson *et al.*, 2001, Kaya *et al.*, 2002, Morello e Chemineau, 2004, Valentim, 2004, Pacheco *et al.*, 2009 e Maia, 2010).

4.3.1. Recolha de Sémen

Nos carneiros, a recolha de sémen pode ser feita com recurso a uma vagina artificial (VA) ou por eletroejaculação (**Figura 12**) (Valentim *et al.*, 2016b). A escolha do método de recolha de sémen vai influenciar a sua preservação (Aisen e Venturino, 2004, Jiménez-Rabadán *et al.*, 2012b e Jiménez-Rabadán *et al.*, 2016). Geralmente, o sémen recolhido por VA apresenta

uma qualidade (volume, concentração e motilidade) superior à do sêmen recolhido por electroejaculação (Matthews *et al.*, 2003, Nikolovski *et al.*, 2012 e Malejane *et al.*, 2014).



Figura 12. Contenção e preparação de um carneiro para recolha de sêmen por electroejaculação (A) e modelo de uma vagina artificial para ovinos (B).

Nos ovinos, o método de recolha de sêmen mais utilizado é a VA (Baril *et al.*, 1993, Gordon, 1997, Aisen e Venturino, 2004, Ferra e Sereno, 2006, Granados *et al.*, 2006, Pérez-Clariget e Porras, 2008, Cebrián *et al.*, 2010a, Maia, 2010, Morrell, 2011, Jiménez-Rabadán *et al.*, 2012a,b e Jiménez-Rabadán *et al.*, 2016). Este método é rápido de executar e possibilita a recolha consecutiva de mais do que um ejaculado. Implica a utilização de carneiros dadores de sêmen treinados (Aisen e Venturino, 2004, Maia, 2010 e Leão, 2017). Nem todos os carneiros são treináveis (Aisen e Venturino, 2004). Os malatos podem começar a ser treinados aos 6-10 meses de idade e para facilitar o processo de treino eles devem ser criados junto das fêmeas, de modo a familiarizarem-se com o seu comportamento sexual e aprenderem a montar (Aisen e Venturino, 2004 e Cebrián *et al.*, 2010a).

Nas sessões de recolha de sêmen, os carneiros são estimulados a montar uma ovelha em cio natural ou induzido ou um manequim (Baril *et al.*, 1993, Gordon, 1997, Aisen e Venturino, 2004, Ferra e Sereno, 2006, Granados *et al.*, 2006, Pérez-Clariget e Porras, 2008, Cebrián *et al.*, 2010a, Maia, 2010, Morrell, 2011, Jiménez-Rabadán *et al.*, 2012a,b e Jiménez-Rabadán *et al.*, 2016).

4.3.1.1. Vagina Artificial

A VA é uma imitação da vagina da fêmea, que através de um estímulo térmico e mecânico desencadeia a ejaculação (Aisen e Venturino, 2004). É constituída por uma bainha de borracha que é colocada dentro de um tubo pouco flexível, sobre o qual se dobram as pontas da bainha interior, que são presas com elásticos (Aisen e Venturino, 2004 e Morrell, 2011). O espaço que

é criado entre a borracha e o tubo pode ser preenchido com água quente (50-55°C) ou ser aquecida numa estufa (40-42°C) (Steyn, 2003, Aisen e Venturino, 2004 e Leão, 2017). A temperatura a que é aquecida vai depender da temperatura ambiente (Steyn, 2003 e Aisen e Venturino, 2004). Se durante a sessão de recolha o macho não ejacular é porque a temperatura ou a pressão não são as corretas (Aisen e Venturino, 2004). O tubo exterior da VA possui uma válvula dupla (Leão, 2017). A pressão no interior da VA pode ser ajustada através de insuflação realizada na abertura da segunda válvula (Morrell, 2011). O tubo coletor graduado, onde fica depositado o sémen, deve ser inserido numa das extremidades da VA e deve estar envolto em material termo isolante para prevenir o choque térmico e evitar a alteração da qualidade do sémen (Morrell, 2011 e Leão, 2017). Deve ser ainda colocada outra proteção termo-isolante que cubra a VA e o tubo coletor (Granados *et al.*, 2006, Lucena, 2010 e Leão, 2017). A VA deve estar lavada e desinfetada antes de ser utilizada (Gordon, 1997, Ferra e Sereno, 2006, Cebrián *et al.*, 2010a e Leão, 2017). Deve-se usar uma VA por animal (Cebrián *et al.*, 2010a). Por outro lado, o prepúcio do carneiro deve ser previamente higienizado para evitar qualquer tipo de contaminação do material recolhido (Cebrián *et al.*, 2010a). Estas medidas previnem a conspurcação da amostra de sémen recolhida e a disseminação de doenças sexualmente transmissíveis (Abecia e Forcada, 2010).

Nos carneiros é possível recolher dois ejaculados consecutivos de um mesmo macho para o mesmo tubo coletor (Baril *et al.*, 1993 e Gordon, 1997). Isto só deve ser feito se o segundo ejaculado for obtido no intervalo de 2-3 minutos. Caso contrário, a segunda colheita tem de ser realizada com outra VA, para outro tubo coletor (Baril *et al.*, 1993 e Leão, 2017). Após a recolha, o ejaculado deve ser imediatamente transportado, em condições controladas, para laboratório e ser colocado num banho-maria a 30-37°C (Aisen e Venturino, 2004, Mateus, 2014, Dendena, 2017 e Leão, 2017).

4.3.1.2. Eletroejaculação

A eletroejaculação deve ser realizada sempre que não é possível recolher a amostra de sémen por VA – quando os machos não estão treinados ou quando estes possuem alguma incapacidade física ou uma libido reduzida (Ferra e Serrano, 2006 e Aisen e Venturino, 2004). Este método deve ser sempre usado como último recurso, uma vez que, no mínimo, causa desconforto ao animal e pode originar a contaminação do ejaculado com urina (neste caso, o ejaculado tem de ser rejeitado) (Ax *et al.*, 2004, Ferra e Serrano, 2006 e Lucena 2010). Na eletroejaculação é usado um equipamento elétrico que produz descargas de 4-15 volts e uma

sonda que é introduzida no reto do macho com o objetivo de estimular os centros nervosos que controlam a ereção e a ejaculação (Ferra e Sereno, 2006, Cebrián *et al.*, 2010a e Leão, 2017).

Para realizar a eletroejaculação são necessárias, no mínimo, 3 pessoas para imobilizar o animal e realizar a recolha do ejaculado. O carneiro é colocado em decúbito lateral sobre uma mesa, após o que se realiza a preparação da zona do prepúcio – remoção dos pelos ou da lã e de toda a sujidade que possa contaminar o sémen (Aisen e Venturino, 2004 e Cebrián *et al.*, 2010a). A sonda, previamente lubrificada, é então introduzida 10-20 cm no reto (Aisen e Venturino, 2004). De seguida exterioriza-se a glândula e segura-se na base do pénis, que é introduzido num cone com um tubo coletor graduado (Steyn, 2003 e Aisen e Venturino, 2004). A estimulação da ereção é feita quando a sonda é pressionada contra a porção ventral da pélvis e o eletroejaculador aplica 3-5 estímulos curtos (1-2 segundos), com 2-4 segundos de intervalo entre si (Steyn, 2003, Aisen e Venturino, 2004 e Cebrián *et al.*, 2010a). De seguida, para estimular a ejaculação, o eletroejaculador aplica 1-3 estímulos mais prolongados (5-10 segundos) (Aisen e Venturino, 2004). Os ejaculados recolhidos por eletroejaculação tendem a ser mais volumosos e menos concentrados do que os ejaculados recolhidos com o auxílio de uma VA (Leboeuf *et al.*, 2000).

4.3.2. Métodos de Preservação do Sémen

O sucesso da IA depende muito da qualidade do sémen, quando da colheita e após preservação. O sémen pode ser preservado fresco ($\approx 33^{\circ}\text{C}$) (Aisen, 2004b), refrigerado ($5-15^{\circ}\text{C}$) (Abecia e Forcada, 2010) ou congelado (-196°C) (Aisen, 2004b e Granados *et al.*, 2006).

Depois de recolhida, a amostra de sémen deve ser rapidamente colocada num banho-maria a $33-37^{\circ}\text{C}$ (Valentim *et al.*, 2016b). De seguida deve-se avaliar as características quantitativas e qualitativas do sémen (Palacios, 2010). Alguns dos parâmetros mais avaliados são: o volume, a cor, o aspeto, a concentração espermática, a motilidade, a viabilidade (análise da integridade da membrana), o grau de capacitação espermática e a percentagem de espermatozoides apoptóticos (Cebrián *et al.*, 2010a). As três primeiras podem ser avaliadas a “olho nu” e as restantes devem ser feitas com o auxílio de um sistema “CASA” (*Computer-Assisted Semen Analysis*) (Matos *et al.*, 2008).

4.3.2.1. Sémen Fresco

Nos ovinos, a IA é realizada maioritariamente com sémen fresco, puro ou diluído (Baril *et al.*, 1993, Aisen, 2004b, David *et al.*, 2015, Jiménez-Rabadán *et al.*, 2016, Dendena, 2017 e

Leão, 2017). Quando utilizado na primeira hora pós-colheita resulta em excelentes taxas de fertilidade. No entanto, com o passar do tempo, a sua motilidade e viabilidade diminuem rapidamente (O'Hara *et al.*, 2010), devido à acumulação de catabolitos de origem metabólica tóxicos para os espermatozoides (Rojero *et al.*, 2009).

4.3.2.2. Sémen Refrigerado

O sémen refrigerado, dependendo da temperatura de conservação, 15°C ou 5°C, deve ser usado, respetivamente, nas primeiras 6-8 horas ou 48-72 horas pós-colheita (Abecia e Forcada, 2010 e O'Hara *et al.* 2010), ou seja, os intervalos mais alargados ocorrem quando se trabalha com sémen refrigerado a 5°C (Anel *et al.*, 2006 e Granados *et al.*, 2006). Porém, nem todas as alterações promovidas pelas baixas temperaturas são benéficas para os espermatozoides (Anel *et al.*, 2006 e Arando *et al.*, 2017).

Este método de preservação tem como objetivo reduzir o metabolismo energético dos espermatozoides, através do abaixamento gradual de temperatura do sémen, de modo a prolongar a sua viabilidade e o seu potencial fecundante ao longo do tempo (Gordon, 1997, Salamon e Maxwell, 2000, Aisen, 2004b, Anel *et al.*, 2006, Cebrián *et al.*, 2010b, Leahy *et al.*, 2010, Sariözkan *et al.*, 2010, Câmara e Guerra, 2011, Morrell, 2011, Memon *et al.*, 2012, Ledesma *et al.*, 2016, Valentim *et al.*, 2016b, Leão, 2017 e Salmon *et al.*, 2017). A redução da temperatura do sémen tem de ser realizada de forma constante e homogênea, para evitar um choque térmico letal para os espermatozoides (Medeiros *et al.*, 2002).

4.3.2.3. Sémen Congelado

O tempo útil de vida do sémen congelado é indefinido (Aisen, 2004b e Granados *et al.*, 2006), sem perderem qualidade (Gordon, 1997, Leboeuf *et al.*, 2000, Aisen, 2004b e Morrell, 2011). Esta técnica envolve a refrigeração do sémen entre os 37°C e os 5°C, a estabilização a esta temperatura e a congelação em vapores de azoto líquido, antes das palhinhas ser mergulhadas diretamente em azoto líquido (-196°C) (Tsakmakidis, 2010). Todavia, o processo de congelação/descongelação pode causar alterações ultra-estruturais, bioquímicas e funcionais numa importante percentagem de células espermáticas (Leboeuf *et al.*, 2000 e Aisen, 2004b). Reduz a motilidade e danifica as membranas dos espermatozoides (Gordon, 1997, Leboeuf *et al.*, 2000 e Aisen, 2004b). Porém, os espermatozoides dos ruminantes até reagem relativamente bem a este processo (Morrell, 2011).

4.3.2.4. Diluidores

Os diluidores podem ser naturais – leite de vaca, água de coco ou gel de aloé vera – ou sintéticos (Ritar *et al.*, 1990 e Palacios, 2010). As funções do diluidor são dar volume, estabilizar o pH (potencial de hidrogénio), manter a osmolaridade adequada e proporcionar uma fonte energética para os espermatozoides (Valentim *et al.*, 2016b). Após a diluição, o sémen é progressivamente arrefecido, da temperatura de colheita até a temperatura de armazenamento (15°C ou 5°C) (Maxwell e Watson, 1996). O sémen diluído refrigerado deve ser utilizado 8-10 horas após a colheita já que, a sua capacidade fertilizadora decresce gradualmente durante o armazenamento – cerca de 10-35% por dia (Maxwell e Salamon, 1993 e Salamon e Maxwell, 2000). O prolongamento do armazenamento origina a redução da motilidade e compromete a integridade morfológica dos espermatozoides (Maxwell e Salamon, 1993 e Salamon e Maxwell, 2000).

Os diluidores sintéticos recentemente desenvolvidos, à base de dissacarídeos, trissacarídeos, polissacarídeos ou outras moléculas complexas, são muito utilizados na criopreservação de sémen (Cseh *et al.*, 2012). Este tipo de armazenamento pode promover o avanço da capacitação das membranas espermáticas, afetando a viabilidade e a fertilidade pós-IA (Salamon e Maxwell, 2000, Anel *et al.*, 2006, Domínguez *et al.*, 2008, Bernardini *et al.*, 2011, Cseh *et al.*, 2012, Memon *et al.*, 2012 e Fonseca *et al.*, 2017). Por outro lado, a sobrevivência e a velocidade, de transporte dos espermatozoides congelados no trato reprodutor feminino diminuem (Nutti, 2007 e Parkinson, 2009). A última resulta num aumento da mortalidade embrionário precoce causado pela fecundação dos oócitos por espermatozoides envelhecimento (Nutti, 2007 e Parkinson, 2009).

A motilidade e a concentração do ejaculado são os parâmetros que vão determinar o nível de diluição do ejaculado (Palacios, 2010). A diluição mais comum é de 1:2, uma vez que a utilização de diluições superiores origina uma baixa concentração espermática e aumenta o risco de refluxo seminal, particularmente nas inseminações cervicais pouco profundas (Steyn, 2003, Bicudo, 2005 e Ferra e Sereno, 2006).

Quando da diluição, a amostra de sémen e o diluidor devem estar à mesma temperatura (Valentim *et al.*, 2016b).

4.4. Técnicas de IA

Nos ovinos, a morfologia do trato genital feminino, os métodos de preservação dos espermatozoides e as diferentes técnicas de IA afetam a taxa de fertilidade pós-IA (Kershaw *et*

al., 2005). Nos pequenos ruminantes podem ser aplicadas 4 técnicas de IA (relacionadas com o local de deposição do sêmen): vaginal, cervical, transcervical ou uterina (laparoscopia ou laparotomia) (Anel *et al.*, 2006, Granados *et al.*, 2006, Fonseca *et al.*, 2010, Valentim *et al.*, 2016b e Leão, 2017).

4.4.1. Inseminação Vaginal

A técnica mais simples é a inseminação vaginal, que consiste na deposição do sêmen na vagina, o mais profundamente possível, sem a necessidade de localizar a cérvix (Mylne *et al.*, 1997, Bettencourt, 1999, Ferra e Sereno, 2006, Palacios, 2010 e Dendena, 2017). Tem como grandes vantagens implicar uma contenção mínima e não requerer uma manipulação prolongada das fêmeas a inseminar (Ferra e Sereno, 2006 e Oliveira, 2009). Por outro lado, o procedimento é rápido e fácil de executar em condições de campo (Ferra e Sereno, 2006 e Cseh *et al.*, 2012).

A IA vaginal está associada a reduzidas taxas de fertilidade baixas: 30-50% (Cseh *et al.*, 2012). Contudo, estas dependem do método de preservação do sêmen. Com sêmen fresco ou refrigerado estas taxas são normalmente superiores: 40-65% (Ax *et al.*, 2004, Cseh *et al.*, 2012 e Valentim *et al.*, 2016) ou 88,9% (Dendena, 2017). Com sêmen congelado elas reduzem-se em 5-15% (Cseh *et al.*, 2012).

Nas ovelhas, as doses seminais preparadas com sêmen fresco devem ter uma concentração de 200×10^6 a 400×10^6 espermatozoides (Axe *et al.*, 2004, Ferra e Sereno, 2006, Dendena, 2017, Conradi, 2018 e Fornazarri, 2018) e um volume de 0,2 ml (Cseh *et al.*, 2012).

4.4.2. Inseminação Cervical

Na inseminação cervical a deposição do sêmen é realizada no interior da cérvix, a cerca de 1-3 cm de profundidade (Ferra e Sereno, 2006 e Fornazari, 2018). O tempo despendido na realização da IA afeta a taxa de fertilidade. Este depende do tipo de contenção aplicado, da profundidade a que é colocado o sêmen, da experiência do técnico e do tipo de espéculo vaginal utilizado (Anel *et al.*, 2005 e Donovan *et al.*, 2004).

Nos ovinos, a inseminação cervical deve ser feita entre 48-60 horas após a remoção das esponjas vaginais (tratamento com progestagénios) (Axe *et al.*, 2004 e Donovan *et al.*, 2004). Pode-se optar por realizar uma inseminação única ou dupla (Axe *et al.*, 2004). Se a inseminação for simples, recomendam que esta seja feita 55 ± 1 horas pós-tratamento (Baril *et al.*, 1993, Gordon 1997, Ax *et al.*, 2004, Ferra e Sereno 2006, Conradi *et al.*, 2017, Dendena, 2017,

Fornazari *et al.*, 2018, Conradi, 2018 e Fornazari, 2018). Se for dupla há que realizá-las 48-60 horas pós-tratamento (Baril *et al.*, 1993, Bettencourt, 1999, Ax *et al.*, 2004 e Ferra e Sereno, 2006).

Na inseminação cervical é normalmente utilizado sémen fresco (100×10^6 a 200×10^6 espermatozoides/ml) ou refrigerado (200×10^6 a 400×10^6 espermatozoides/ml (Valentim *et al.*, 2009 e Cseh *et al.*, 2012). A taxa de fertilidade vai depender do número de anéis ultrapassados (ou grau de penetração) pelo pistolete de inseminação. É muito importante não forçar a entrada do pistolete para não provocar lesões (Fonceca *et al.*, 2010 e Valentim *et al.*, 2016b).

Na IA cervical, o uso de sémen fresco ou refrigerado resulta em boas taxas de fertilidade (60,0-97,1%) (Ax *et al.*, 2004, Ferra e Sereno, 2006, Valentim *et al.*, 2009, Conradi *et al.*, 2017, Dendena, 2017, Conradi, 2018 e Fornazari, 2018). Contudo, o sucesso desta técnica depende do desempenho dos machos dadores de sémen (número de doses seminais que podem ser preparadas) e de possíveis problemas relacionados com a preparação das doses seminais (que tem de ser feita no dia da inseminação) (Alvares *et al.*, 2019).

A higienização do material de inseminação é essencial à prevenção da contaminação do trato genital feminino (Abecia e Forcada, 2010). As fêmeas com vaginite e com corrimentos sanguinolentos, de cor ou de odor estranho, não devem ser inseminadas (Abecia e Forcada, 2010).

4.4.3. Inseminação Transcervical

A inseminação artificial transcervical (TAI) baseia-se na localização, retração e estabilização do cérvix, permitindo a realização de uma inseminação intrauterina (Cseh *et al.*, 2012, Perry *et al.*, 2012 e Valentim *et al.*, 2016). O procedimento da TAI pode ser simplificado se se proceder à deposição do sémen em apenas um dos cornos uterinos (Cseh *et al.*, 2012). O volume e a concentração da dose seminal é, respetivamente, de 0,5 ml e de, pelo menos, 200×10^6 espermatozoides (Cseh *et al.*, 2012).

4.4.4. Inseminação Intrauterina

A inseminação intrauterina é feita através da colocação de sémen diretamente no lúmen dos cornos uterinos (Granados *et al.*, 2006, Gonçalves e Valencia, 2008 e Gibbons e Cueto, 2011). Nela é utilizado normalmente sémen congelado (com origem nacional ou internacional)

(Valencia, 2008 e Gibbons e Cueto, 2011). O processo de congelação/descongelação determina a morte de uma elevada percentagem de espermatozoides viáveis (40-50%) (Maxwell e Watson, 1996, Watson, 2000 e Gonçalves e Valencia, 2008). A suscetibilidade aos danos da criopreservação varia entre espécies e está correlacionada com a composição fosfolipídica da membrana espermática. Animais que produzam concentrações reduzidas de esteroides e concentrações elevadas de ácidos gordos polinsaturados são mais predispostos aos danos causados pelo choque térmico (Darin-Bennett *et al.*, 1973; citados por Alberti, 2007 e Dendena, 2017).

Nos ovinos devem ser inseminados $10\text{--}12 \times 10^6$ de espermatozoides (Gordon, 1997), $10\text{--}50 \times 10^6$ espermatozoides (Aisen, 2004a), 20×10^6 espermatozoides (Perkins *et al.*, 1996; Salamon e Maxwell, 1995a,b e Parkinson, 2009; citados por Cseh *et al.*, 2012), $20\text{--}50 \times 10^6$ espermatozoides (Anel *et al.*, 2006) ou $25\text{--}100 \times 10^6$ espermatozoides (Forcada *et al.*, 2012). O volume da dose seminal pode ser de 0,05 ml (Cseh *et al.*, 2012).

II- Trabalho Experimental

1. Material e Métodos

Este estudo foi realizado em Carviçais, concelho de Torre de Moncorvo, região de Trás-os-Montes e Alto Douro, mais precisamente na exploração comercial Mateus Lda. (Latitude: 41° 10'N, Longitude: 6° 55'W e Altitude: 701 metros), entre 11 de junho e 11 de agosto 2019.

1.1. Animais

Neste estudo foram utilizadas 43 ovelhas cruzadas de Awassi x Sarda, com idades compreendidas entre os 2-14 anos. Todas as ovelhas tinham parido 5-6 meses antes do início do estudo e estavam em lactação (**Figura 13**).



Figura 13. Ovelhas cruzadas de Awassi x Sarda utilizadas no ensaio.

1.2. Alimentação

As ovelhas foram mantidas em estabulação permanente e alimentadas, em grupo, com feno de prados naturais (*ad libitum*) e de luzerna (1,0 kg/animal/dia) e suplementadas com alimento concentrado comercial ($\approx$ 1,0 kg/animal/dia). Durante a ordenha (2 vezes/dia), as ovelhas receberam mais 500 g/animal de alimento concentrado comercial.

Este ensaio teve início com a determinação da condição corporal (CC) das ovelhas, segundo a tabela de classificação australiana (Russel *et al.*, 1969).

1.3. Avaliação da Atividade Ovária

A atividade ovária das ovelhas foi avaliada através da determinação dos níveis plasmáticos de P₄. A recolha das amostras de sangue foi feita com o auxílio de tubos de ensaio em vácuo e heparinizados, através de punção da veia jugular. Após centrifugação do sangue, a

3.000 r.p.m., durante 15 minutos, procedeu-se à separação do sobrenadante (plasma sanguíneo), que foi pipetado para tubos de Eppendorf devidamente identificados. Posteriormente, estes foram congelados numa arca ultracongeladora (-70°C) (Thermo 960[®], Electron Cooperation, Marlotta, EUA) até ao momento do seu processamento.

Os níveis plasmáticos de P₄ foram determinados através da técnica de RIA (radioimunoensaio). Esta foi realizada com recurso a um leitor de cintilações DPC[®] Gamma C12 (Bertholt Technologies, Bad Wildbad, Alemanha), segundo a técnica indicada pelo fabricante dos *kits* (DiaSource[®] ImmunoAssays, Louvain-la-Neuve, Bélgica). Os coeficientes médios de variação intra e inter-ensaio foram, respetivamente, de 6,1 e 14,9%.

1.3.1. Avaliação da Ciclicidade Pré-tratamentos Progestagénicos

Nas duas semanas anteriores à realização dos tratamentos progestagénicos curtos + eCG (11-22 de junho de 2019), com o objetivo de determinar o estado fisiológico das ovelhas (Cíclicas *vs.* Anestro), procedeu-se à colheita de amostras de sangue, com 3-4 dias de intervalo. As colheitas foram feitas sempre no período da manhã. A metodologia utilizada foi a mesma indicada no item 1.3.

Considerou-se que as ovelhas estavam em anestro sazonal quando, na totalidade das amostras recolhidas, os níveis plasmáticos de P₄ foram inferiores a 0,5 ng/ml.

1.3.2. Avaliação da Resposta Ovária aos Tratamentos Progestagénicos + eCG

Com o intuito de identificar a formação do primeiro CL pós-tratamentos progestagénicos curtos + eCG, nos cinco dias pós-administração de eCG, procedeu-se à recolha de amostras de sangue periférico, para posterior determinação dos níveis plasmáticos de P₄. A metodologia utilizada foi a mesma indicada no item 1.3.

Considerou-se que o primeiro CL se havia formado quando os níveis plasmáticos de P₄ ultrapassaram, pela primeira vez, os 0,5 ng/ml.

1.4. Tratamentos Aplicados

No dia 22 de junho de 2019, as ovelhas foram divididas em dois grupos: FGA (n = 21) e CIDR (n = 22). As ovelhas do grupo FGA receberam uma esponja vaginal impregnada com 20 mg de FGA (Chrono-Gest[®], Intervet, Portugal) e as do grupo CIDR um dispositivo vaginal com 0,35 g (CIDR[®], Zoetis, Portugal) (**Figura 14**). Quando da colocação das esponjas e dos dispositivos vaginais, as ovelhas receberam uma injeção intramuscular (i.m.) de 100 µg de

cloprostenol (Estrumate[®], MSD Animal Health, Portugal) – análogo sintético da PGF_{2α}. O tratamento progestagénico teve a duração de sete dias. Quando da remoção das esponjas e dos dispositivos vaginais (29 de junho de 2019), todas as ovelhas receberam uma injeção i.m. de 500 UI de eCG (Intergonan[®], Intervet, Portugal).



Figura 14. Material necessário à colocação das esponjas vaginais (esquerda) e dos dispositivos CIDR (direita).

1.5. Doses Seminais

No dia 1 de julho 2019, as ovelhas foram inseminadas com doses seminais preparadas com sémen fresco de carneiros da raça Assaf pertencentes à Exploração Comercial Mateus Lda.

1.5.1. Recolha de Sémen e Análises Seminais

Os ejaculados foram recolhidos por electroejaculação (Minitube[®], modelo MT, Tiefenbach, Alemanha). Depois da colheita, os tubos coletores foram rapidamente transportados para laboratório e mantidos em um banho-maria (Grant International, Cambridge, Inglaterra), a 37°C. No mesmo equipamento já tinha sido colocado o diluidor seminal (Andromed[®], Tiefenbach, Alemanha).

Os parâmetros seminais avaliados foram o volume, a concentração espermática e a motilidade massal. O volume foi medido através da graduação dos tubos coletores. A concentração espermática foi estimada com recurso a um fotómetro SDM1 (Minitube, Tiefenbach, Alemanha). A motilidade massal foi avaliada, sob uma ampliação de 200X, em um microscópio trinocular (Motic BA-310, Barcelona, Espanha) com contraste de fases. Ela foi classificada de acordo com a tabela proposta por Steyn (2003).

1.5.2. Preparação das Doses Seminais

Os ejaculados utilizados na preparação das doses seminais tinham um volume $\geq 1,8$ ml, uma motilidade massal ≥ 4 pontos e uma concentração espermática $\geq 3.266 \times 10^9$ espermatozoides/ml (**Quadro I**). Cada palhinha de sémen continha, pelo menos, 200×10^6 espermatozoides.

Quadro I. Características seminais de cada macho dador de sémen

Carneiro	Volume	Concentração espermática	Motilidade
A	1,8 ml	3.374×10^9 (SPZ/ml)	5
B	2,0 ml	3.708×10^9 (SPZ/ml)	4
C	2,0 ml	3.266×10^9 (SPZ/ml)	5

Depois de diluídos, os ejaculados selecionados foram deixados a repousar a 37°C, durante aproximadamente 10 minutos. De seguida procedeu-se à sua aspiração para palhinhas de sémen francesas de 0,25 ml e seladas com álcool polivinílico em pó. As inseminações começaram a ser feitas uma hora depois da colheita de sémen e ocorreram no intervalo máximo de 40 minutos.

1.6. Inseminação Artificial a Tempo Fixo

Todas as ovelhas foram inseminadas, independentemente de terem manifestado cio, 53 + 1 horas depois da administração de eCG. Foram realizadas por dois inseminadores. Para o efeito eles utilizaram um vaginoscópio IMV (L'Aigle, França) munido de luz LED, pistoletes para ovinos Quicklock® (Minitube, Tiefenbach, Alemanha) e bainhas Minitub® (Tiefenbach, Alemanha).

A deposição do sémen foi feita sempre o mais profundamente possível sem, no entanto, forçar a passagem do pistoleta pelo canal cervical, a fim de evitar inflamar ou traumatizar a mucosa do canal cervical.

Terminadas as IA, o pessoal envolvido retirou-se calmamente do local, as ovelhas foram libertadas e deixadas sozinhas durante 4 horas. Por outro lado, é importante salientar que, nos 30 dias seguintes, se manteve o aporte energético/proteico da dieta.

1.7. Posição das Fêmeas Durante a Inseminação Artificial

As ovelhas foram inseminadas na sala de ordenha. Na inseminação com o vaginoscópio tradicional, para facilitar a observação de *Os* externo, um ou dois membros da equipa elevaram os membros posteriores das ovelhas, mantendo, no entanto, os membros anteriores sempre em contacto com o solo (**Figura 15**).



Figura 15. Equipamento de inseminação (A) e observação de *Os* externo (B).

1.8. Diagnóstico de Gestação

Quarenta e um dias (11 de agosto de 2019) após a IA procedeu-se ao diagnóstico de gestação por ultrassonografia em tempo real, com o auxílio de um ecógrafo Mindray Z5Vet e de uma sonda rectal multifrequência (5,0-10,0 MHz).

1.9. Análise Estatística

No sentido de identificar diferenças estatisticamente significativas entre alguns parâmetros, efetuaram-se análises de variância (Steel e Torrie, 1980). A comparação entre médias realizou-se segundo o teste de Bonferroni/Dunn (Dunn, 1961). Com o intuito de se compararem frequências, utilizou-se o teste do χ^2 (Snedecor e Cochran, 1980).

2. Resultados e Discussão

2.1. Idade

No início deste estudo, a idade média das ovelhas Awassi x Sarda era de $2,8 \pm 2,0$ anos. As diferenças de idade registadas entre as ovelhas dos grupos FGA e CIDR revelaram-se estatisticamente não significativas ($P>0,05$). O mesmo sucedeu relativamente à idade dos carneiros dadores de sémen ($P>0,05$).

A idade não afetou significativamente o estado fisiológico das ovelhas antes da aplicação dos tratamentos de controlo reprodutivo ($P>0,05$). Este parâmetro também não condicionou a resposta das ovelhas aos tratamentos aplicados e às taxas de fertilidade aparente encontradas ($P>0,05$).

Nos ovinos, a idade afeta a resposta reprodutiva das ovelhas (Shackell *et al.*, 1990, Anel *et al.*, 2005, Esmailizadeh *et al.*, 2009, Forcada, 2010, Santolaria *et al.*, 2011, Palacín *et al.*, 2012, Venâncio, 2012, Valentim *et al.*, 2015, Conradi, 2018 e Fornazari, 2018). Assim, por exemplo, a taxa de fertilidade tende a ser mais baixa entre as fêmeas nulíparas e primíparas do que entre as fêmeas múltiparas (Halbert *et al.*, 1990, Windsor, 1995 e Palacín *et al.*, 2012), possivelmente porque elas produzem menos secreções cervicais e o transporte dos espermatozoides no trato genital feminino é comprometido (Selaive-Villarroel e Kennedy, 1983a,b; citados por Palacín *et al.*, 2012). Mais, nas ovelhas múltiparas, a taxa de fertilidade tende a aumentar com a idade (Windsor, 1995 e Palacín *et al.*, 2012), até aos 5 (Anel *et al.*, 2006, Santolaria *et al.*, 2011 e Palacín *et al.*, 2012), 6 (Shackell *et al.*, 1990) ou 7 anos de idade (Esmailizadeh *et al.*, 2009, Santolaria *et al.*, 2011 e Fornazari, 2018). Nas ovelhas mais velhas, a taxa de fertilidade tende a reduzir-se devido ao aumento do risco de ocorrência de problemas reprodutivos e à diminuição da qualidade dos oócitos ovulados (Palacín *et al.*, 2012). No presente trabalho, 42 (97,7%) das ovelhas apresentavam idades compreendidas entre 2-5 anos de idade; apenas 1 (2,3%) tinha 14 anos de idade). O facto da idade não ter condicionado a resposta reprodutiva das ovelhas às técnicas aplicadas pode estar associada ao número de fêmeas estudadas e a quase totalidade delas ter uma idade adequada à função reprodutiva.

2.2. Condição Corporal

As ovelhas estudadas apresentavam uma CC média de $3,7 \pm 0,6$. As diferenças de CC entre as ovelhas dos grupos FGA e CIDR foram estatisticamente não significativas ($P>0,05$). O

mesmo verificou-se relativamente à CC dos machos dadores de sêmen (A-3,8±0,7; B-3,7±0,5; C-3,8±0,6) (P>0,05).

De acordo com Molina *et al.* (1994), Azevedo *et al.* (2006), Valentim *et al.* (2006), López-Sebastian *et al.* (2007), Maeini *et al.* (2007), Bartlewski *et al.* (2008), Gonzalez-Bulnes *et al.* (2010), Bukar *et al.* (2012), Venâncio (2012) e Valentim *et al.* (2015), a CC à cobrição condiciona a taxa de fertilidade. Todavia, no presente trabalho, a CC não afetou significativamente o estado fisiológico das ovelhas pré-tratamentos de controlo reprodutivo (P>0,05). Este parâmetro também não influenciou a resposta das ovelhas aos tratamentos aplicados e as taxas de fertilidade obtidas (**Figura 16**) (P>0,05). Na verdade, as ovelhas estudadas, apesar de estarem em lactação, apresentavam uma CC adequada à cobrição. Segundo O'Brein (2002), Scaramuzzi e Martin (2008) e Karikari e Blasus (2009), a CC ideal das ovelhas à cobrição é de 2,5-3,5 pontos. Palacios (2010) e Valentim *et al.* (2016) referem valores de 3,0-4,0 pontos.

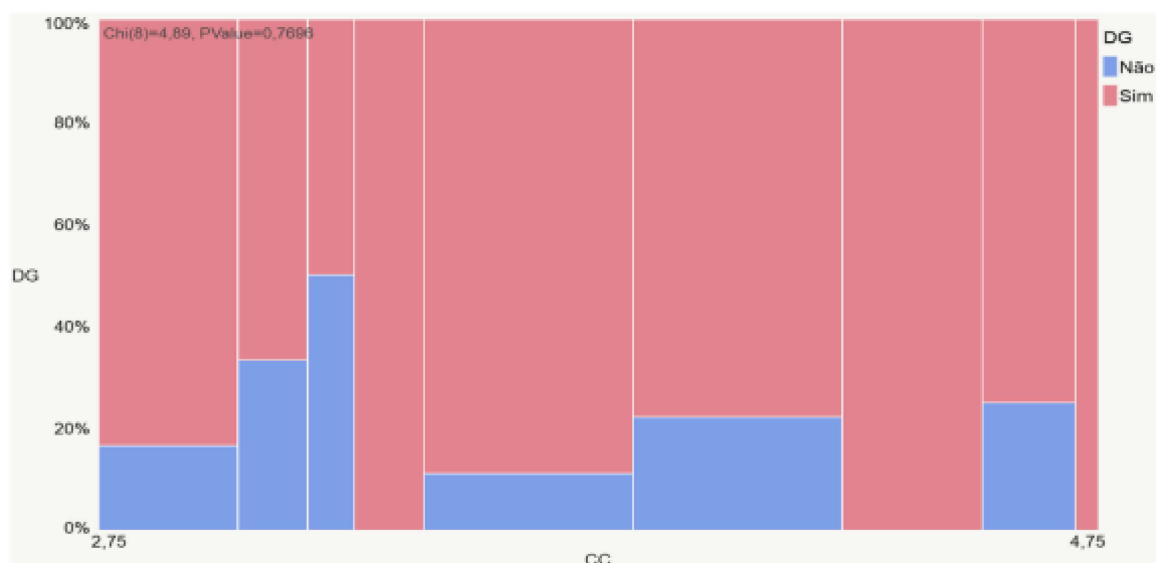


Figura 16. Variação da taxa de fertilidade em função da CC das ovelhas Awassi x Sarda.

2.3. Avaliação da Ciclicidade Pré-tratamentos Progestagénicos

O estado fisiológico das ovelhas (cíclicas ou anestros) pré-tratamento de controlo reprodutivo condiciona a sua resposta ao mesmo (Kukovics *et al.*, 2011). Neste sentido, os investigadores devem identificar o estado fisiológico das ovelhas antes de começar o procedimento de controlo da atividade reprodutiva (Steyn, 2003).

Nas duas semanas anteriores (junho) à aplicação dos tratamentos progestagénicos curtos + eCG, todas as ovelhas apresentaram níveis plasmáticos de P₄ superiores a 0,5 ng/ml, o que

significa que todas estavam “cíclicas”. Os resultados encontrados no presente trabalho eram de algum modo esperados, uma vez que as ovelhas das raças Awassi e Sarda são originárias da bacia do mediterrâneo (Galal *et al.*, 2008, Gürsoy, 2011 e Mateus, 2014). Por outro lado, a generalidade das ovelhas estudadas, ainda que em lactação, eram jovens e apresentavam uma boa CC – 2,75-4,5. Mais, na zona da Terra Quente Transmontana, no fim da Primavera – início do Verão, as temperaturas do ar são amenas, pelo que os gastos energéticos em termorregulação são reduzidos. Consequentemente, as reservas corporais em energia podem ser usadas na atividade reprodutiva (Salama *et al.*, 2014, Palacios e Abecia, 2015, Abecia *et al.*, 2016 e Silva *et al.*, 2016). Mateus (2014) e Fornazari (2018) verificaram que, já nos meses de março a maio, as ovelhas Awassi x Sarda da Exploração Comercial Mateus Lda. apresentam atividade ovárica cíclica.

2.4. Resposta Ovárica aos Tratamentos Progestagénicos Curtos + eCG

O sucesso dos programas de IA depende da resposta das ovelhas ao tratamento de controlo da atividade reprodutiva (Baril *et al.*, 1993, Drion *et al.*, 2001, Menchaca e Rubianes 2004, Ustuner *et al.*, 2007 e Kukovics *et al.*, 2011). De acordo com Ungerfeld e Rubianes (2002), Romano (2004), Ozyurtlu *et al.* (2010), Fleisch *et al.* (2012), Omontese *et al.* (2014), Swelum *et al.* (2015) e Ainsworth e Downey (1986) (citados por Yu *et al.*, 2018), os dispositivos CIDR são tão eficazes quanto as esponjas vaginais no controlo da atividade ovárica das ovelhas. Contudo, Omontese *et al.* (2014) e Swelum *et al.* (2015) consideram que o CIDR promove taxas de fertilidade, de prolificidade e de fecundidade superiores às dos tratamentos com FGA. No presente trabalho, todas as ovelhas responderam aos tratamentos progestagénicos curtos + eCG aplicados, ou seja, ambos os tratamentos revelaram-se muito eficazes. As condições ambientais favoráveis, a idade, a CC e o facto de todas elas estarem cíclicas quando da aplicação dos tratamentos de controlo reprodutivo contribuíram certamente para este resultado.

2.5. Resposta à Inseminação Artificial

Diferentes autores propõem diferentes tempos fixos de IA pós-tratamento de controlo reprodutivo: 46 horas (Fernandez-Abella *et al.*, 2003; citados por Kukovics *et al.*, 2011), 48-72 horas (Karagiannidis *et al.*, 2001; citados por Kukovics *et al.*, 2011), 55 horas (Baril *et al.*, 1993 e Valentim *et al.*, 2009) e 58-63 horas (Donovan *et al.*, 2001, 2004). No presente trabalho todas

as ovelhas foram inseminadas, independentemente da terem manifestado cio, 53 ± 1 horas pós-tratamentos pós-tratamentos progestagénicos curtos + eCG.

Quarenta e um dias após a IA, 83,7% das ovelhas Awassi x Sarda estavam gestantes. Esta taxa de fertilidade revelou-se muito superior à média indicada na bibliografia para ovinos: 40-60% (Anel *et al.*, 2005 e Fair *et al.*, 2005, citados por Masoudi *et al.*, 2017), 50-65% (Baril *et al.*, 1993, Ax *et al.*, 2004 e Valentim *et al.*, 2009), 65-75% (Colas e Guérin 1979; citados por Cognié, 1988). Contudo, alguns autores referem valores de fertilidade igualmente elevados: 70-82% (Donovan *et al.*, 2001, 2004), 74,5% (Fornazari, 2018), 82,2% (Hill *et al.*, 1998 e Ehling *et al.*, 2003, citados por Kukovics *et al.*, 2011), 84,1% (Conradi, 2018), 85,1% (Dendena, 2017) e 80-90% (Kukovics *et al.*, 2011).

2.6. Possíveis Fatores Condicionadores da Taxa de Fertilidade

2.6.1. Tratamento Hormonal

De acordo com Santos-Neto *et al.* (2015), os dispositivos CIDR resultam numa taxa de fertilidade pós-IA cervical ou intra-uterina (a tempo fixo) superior à conseguida com esponjas vaginais com MAP. A semivida dos progestagénios é superior à da P4 (Santos-Neto *et al.*, 2015). Consequentemente, a remoção do CIDR resulta numa redução mais rápida dos níveis circulantes desta hormona, num desenvolvimento folicular pré-ovulatório mais rápido e na antecipação da ovulação (Santos-Neto *et al.*, 2015). Contudo, os diferentes progestagénios apresentam grandes diferenças quanto às suas propriedades farmacocinéticas e de biodisponibilidade (Schindler *et al.*, 2003). Na verdade, o FGA tem uma semivida mais curta do que o MAP (Romano, 1996), pelo que promove um regresso mais rápido à atividade ovárica cíclica e ao cio (maior precisão e concentração). Por outro lado, na estação reprodutiva, a administração de eCG reduz o intervalo entre a remoção dos dispositivos vaginais e o cio e melhora a eficiência do tratamento de sincronização de cio e a taxa de ovulação (Ustener *et al.*, 2007). De acordo com Hill *et al.* (1998) (citados por Kukovics *et al.*, 2011), a taxa de fertilidade pós-IA depende da quantidade de eCG que é administrada por ovelha: 200 UI – 62,4%, 250 UI – 72,9%, 300 UI – 79,1% e 375 UI – > 69,4%.

No presente trabalho, as ovelhas tratadas com CIDR apresentaram uma taxa de fertilidade inferior à das ovelhas tratadas com esponjas vaginais (CIDR: 77,3% vs. FGA: 90,5%; $\chi^2=6,1$; $P<0,05$) (**Figura 17**). É possível que este resultado esteja relacionado com o momento em que se procedeu à IA. Nas ovelhas cíclicas tratadas com esponjas vaginais, a ovulação produz-se cerca de 58-60 horas depois da sua remoção (Steyn, 2003). Nas ovelhas cíclicas tratadas com

P₄, a ovulação ocorre cerca 48-50 horas pós-remoção deste dispositivo (Gordon, 1997 e Steyn, 2003). Como no presente trabalho, as ovelhas foram todas inseminadas 53 + 1 hora depois de terminarem os tratamentos hormonais é possível que esta decisão tenha favorecido a fertilidade das ovelhas tratadas com FGA. No trabalho desenvolvido por Santos-Neto *et al.* (2015), a IA foi feita 48 horas pós-remoção das esponjas e dos dispositivos vaginais, situação claramente mais favorável à fertilidade das ovelhas tratadas com P₄.

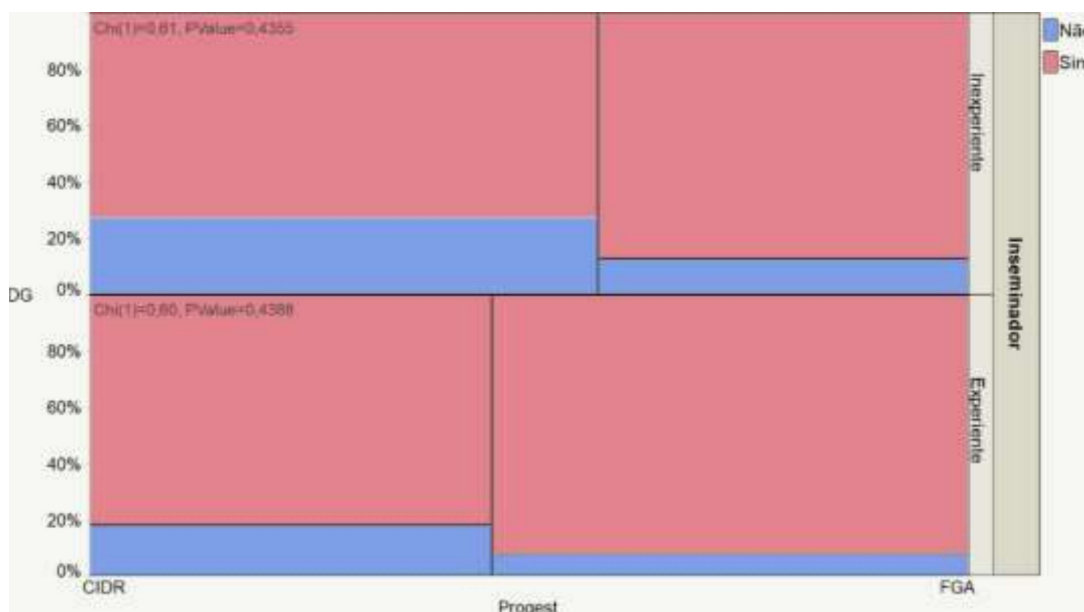


Figura 17. Variação da taxa de fertilidade em função do tratamento hormonal utilizado – progesterona (CIDR) vs. FGA (esponja vaginal).

2.6.2. Carneiro

Nos ovinos de leite, os machos dadores de sémen condicionam a taxa de fertilidade pós-IA (Campbell *et al.*, 1996 e Anel *et al.*, 2005, 2006). Este efeito pode resultar de diferenças entre animais quanto à quantidade e à qualidade das reservas epididimais de espermatozoides no momento da recolha do ejaculado (Baril *et al.*, 1993). Neste trabalho foram usados 3 carneiros como dadores de sémen. As taxas de fertilidade conseguidas com o sémen dos carneiros A e B foram igualmente elevadas (A: 88,9% vs. B: 90,5%; $\chi^2 = 0,1$; $P > 0,5$). Por seu turno, o sémen do carneiro C resultou numa taxa de fertilidade (69,0%) inferior à dos carneiros A ($\chi^2 = 12,1$; $P > 0,5$) e B ($\chi^2 = 13,5$; $P > 0,5$). A metodologia usada no presente trabalho não permitiu identificar a causa desta diferença.

2.6.3. Inseminador

Na IA, a taxa de fertilidade pode variar em função do inseminador (Shackell *et al.*, 1990, Gordon, 1997, Donovan *et al.*, 2004, Anel *et al.*, 2005, Palacín *et al.*, 2012 e Dendena, 2017). Uns são mais eficazes do que outros (Palacín *et al.*, 2012). A ultrapassagem do canal cervical depende muito da aptidão do inseminador (Eppleston e Maxwell, 1993, Santolaria *et al.*, 2011, Palacín *et al.*, 2012 e Dendena, 2017). As diferenças entre eles podem resultar de variações no tempo despendido em cada inseminação (Windsor, 1995), na aptidão para ultrapassar as pregas do cérvix (Eppleston e Maxwell, 1993, McKusick *et al.*, 1998, Santolaria *et al.*, 2011 e Dendena, 2017) sem forçar a passagem do pistolete (Steyn, 2003, Aisen, 2004, Ferra e Sereno, 2006, Santolaria *et al.*, 2011, Valentim *et al.*, 2016, Dendena, 2017, Conradi, 2018 e Fornazari, 2018), na profundidade a que o sémen é depositado no canal cervical (Windsor, 1995, Kaabi *et al.*, 2006 e Anel *et al.*, 2006, Candappa e Bartlewski, 2011, Dendena, 2017, Conradi, 2018 e Fornazari, 2018), na velocidade com que este é aí depositado (muito rápido tende a aumentar o refluxo cervical) (Candappa e Bartlewski, 2011, Morrell, 2011, Dendena, 2017 e Fornazari, 2018), entre outras.

No presente trabalho foi avaliado o efeito da experiência de dois inseminadores – inexperiente *vs.* experiente – sobre a taxa de fertilidade. De acordo com os resultados observados, o nível de experiência dos inseminadores não afetou significativamente a taxa de (Inexperiente: 78,9% *vs.* Experiente: 87,5%) ($\chi^2 = 2,9$; $P > 0,05$) (**Figura 18**). No trabalho realizado por Conradi (2018), este autor também não encontrou qualquer efeito dos inseminadores sobre a taxa de fertilidade. Pelo contrário, Dendena (2017) observou diferenças na taxa de fertilidade resultantes da ação dos inseminadores. De acordo com a nossa experiência de campo, a inexperiência consciente dos inseminadores leva-os a aplicar a técnica de forma mais cuidadosa. Por seu turno, os inseminadores experientes tendem a ser mais rápidos e a apresentar algum excesso de confiança. Também Palacín *et al.* (2012) referem que os inseminadores experientes tendem a rotinar os procedimentos de inseminação e que este comportamento pode ter impacto na taxa de fertilidade.

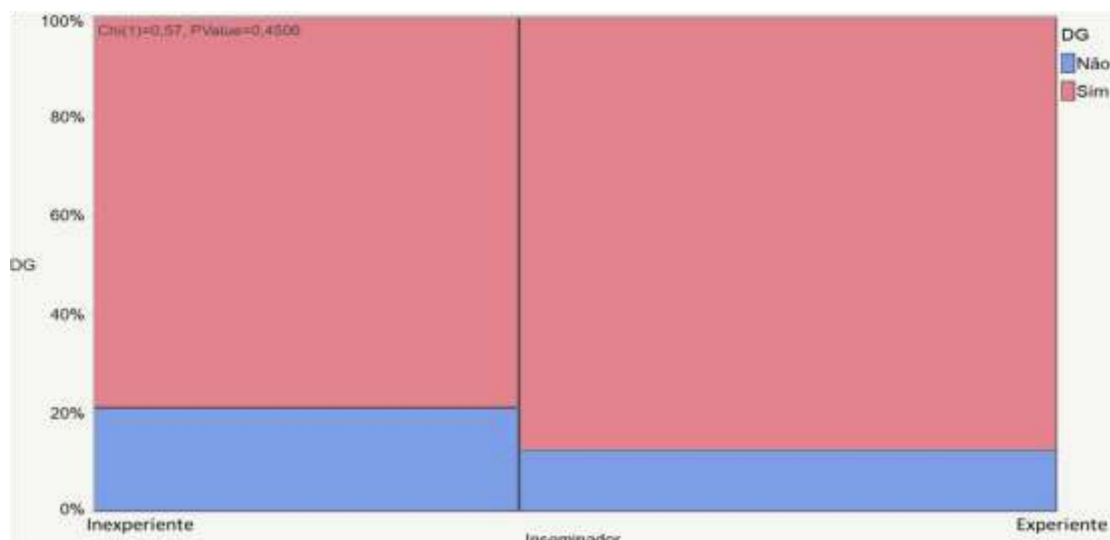


Figura 18. Variação da taxa de fertilidade em função da experiência do inseminador.

2.6.4. Refluxo Cervical de Sêmen

As ovelhas que produzem refluxo cervical apresentam, normalmente, taxas de fertilidade mais baixas (Candappa e Bartlewski, 2011 e Morrell, 2011). O refluxo cervical deve ser evitado particularmente quando este é abundante (Cseh *et al.*, 2012, Dendena, 2017 e Fornazari, 2018). No presente trabalho, apenas 14,0% das ovelhas apresentaram um ligeiro refluxo cervical. Destas, 66,7% ficaram gestantes, ou seja, a maioria ficou gestante. No presente trabalho, a taxa de fertilidade pós-refluxo cervical foi condicionada pelo inseminador ($\chi^2 = 66,7$; $P \leq 0,001$) (**Quadro II**). De novo, é possível que a diferença entre inseminadores tenha resultado do maior cuidado que os inseminadores inexperientes normalmente põem na aplicação da técnica.

Quadro II. Taxa de fertilidade pós-refluxo cervical conseguida pelos inseminadores.

Refluxo Seminal	Taxa de Fertilidade
Inexperiente	100,0% ^a
Experiente	50,0% ^b

a $\neq$ b, para $P \leq 0,001$.

III- Conclusões

Tendo em conta as condições em que este trabalho foi desenvolvido, a metodologia empregue e os resultados alcançados, pode concluir-se que:

- Na primeira quinzena de junho, 100% das ovelhas Awassi x Sarda estavam cíclicas.
- As esponjas vaginais com FGA e os dispositivos CIDR revelaram-se 100% eficazes no controlo da atividade ovárica.
- Quarenta e um dias após a IA, 83,7% das ovelhas estavam gestantes.
- As ovelhas tratadas com CIDR apresentaram uma taxa de fertilidade inferior à das ovelhas tratadas com FGA.
- O carneiro dador de sémen condicionou a taxa de fertilidade.
- Os inseminadores não influenciaram a taxa de fertilidade.
- A maioria (66,7%) das ovelhas que apresentaram refluxo cervical ficaram gestantes.

IV- Referências Bibliográficas

- Abdullah, A.Y., Husein, M.Q., Kridli, R.T. 2002. Protocols for estrus synchronization in Awassi ewes under arid conditions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 15: 957-962.
- Abecia, A. e Forcada F., 2010. Manejo reproductivo en ganado ovino, Editora Servet, Saragoça, Espanha, 195 pp.
- Abecia, J. A., Forcada, F. e Gonzalez-Bulnes, A. 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 130: 173-179.
- Abecia, J.A., Arrébola, F., Macías, A., Laviña, A., González-Casquet, O., Benítez, F. e Palacios, C. 2016. Temperature and rainfall are related to fertility rate after spring artificial insemination in small ruminants. *International Journal of Biometeorology*, 60: 1603-1609.
- Abecia, J.A., Máñez, J., Macias, A., Laviña, A. e Riocerezo, C. 2017. Climate zone influences the effect of temperature on the day of artificial insemination on fertility in two Iberian sheep breeds. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 5: 124-131.
- Abu Zanat, M.M., Mekdadi, H.A., Tabbaa, M.J. 2005. Production systems of small ruminants in middle badia of Jordan. *Dirasat*, 32: 205-213.
- Abusineina, M.E. 1969. Effect of pregnancy on the dimensions and weight of the cervix uteri of sheep. *British Veterinary Journal*, 125: 21-24.
- Afonso, F.M.T. 2015. Antecipação da estação reprodutiva em ovelhas da raça Churra Galega Bragança. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 44 pp. (Tese de Mestrado)
- Aisen, E.G. 2004a. Procesamiento y conservación del material seminal. *In: Reproducción ovina y caprina*, E.G. Aisen (Ed), Intermédica Editora, São Paulo, Brasil, 216 p.
- Aisen, E.G. 2004b. Inseminación artificial de ovejas y cabras. *In: Reproducción ovina y caprina*. E.G. Aisen (Ed), Intermédica Editora, São Paulo, Brasil, 216 p.
- Aisen, E.G. e Venturino, A. 2004. Recolección e evaluación del semen. *In: Reproducción ovina y caprina*. E.G. Aisen (Ed), Intermédica Editora, São Paulo, Brasil, 216 p.
- Ali, A. e Hayder, M. 2007. Ultrasonographic assessment of embryonic, foetal and placental development in Ossimi sheep. *Small Ruminant Research*, 73: 277-282.
- Al-Molla, M.M. e Kridli, R.T. 2003. Effect of royal jelly on puberty of winter-born Awassi ewe lambs. *In: Proc. 54th Annual Meet, EAAP, Book of Abstracts*, Roma, Itália, 325 p.
- Alvares C.T.G., Cruz, J.F. e Ferreira, M.L. 2015. Técnicas de inseminação artificial e implicações fisiopatológicas em ovinos Maringá. *Pubvet*, 9 (5): 220-231.
- Alvarez, M., Anel-Lopez, L., Boixo, J.C., Chamorro, C., Neila-Montero, M., Montes-Garrido, R., de Paz, P. e Anel, L. 2019. Current challenges in sheep artificial insemination: A particular insight. *Reproduction in Domestic Animals*, 54 (S4): 32-40.
- Anel, L., Alvarez, M., Martinez-Pastor, F., Garcia-Macias, V., Anel, E. e de Paz, P. 2006. Improvement strategies in ovine artificial insemination. *Reproduction Domestic Animal*, 41 (Suppl 2): 30-42.

- Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J.C., de la Fuente, L.F. e de Paz., P. 2005. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in Churra ewes: A field assay. *Theriogenology*, 63: 1235-1247.
- Arando, A., Gonzalez, A., Delgado, J.V., Arrebola, F.A. e Perez-Marín, C.C. 2017. Storage temperature and sucrose concentrations affect ram sperm quality after vitrification. *Animal Reproduction Science*, 181: 175-185.
- Ax, R., L., Dally, M.R., Didion, B.A., Lenz, R.W., Love, C.C., Varner, D.D., Hafez, B. e Bellin, M.E. 2004. Inseminação artificial. *In: Reprodução Animal*, E.S.E. Hafez e B. Hafez (Ed), 7ª Edição, Editora Manole, 531 p.
- Azevedo, J., Valentim, R. e Correia, T. 2006. Controlo hormonal da atividade ovárica em ovinos. *Albeitar*, 1: 4-8.
- Baril, G., Chemineau, P., Cognié, Y., Guérin, Y., Leboeuf, B., Orgeur, P. e Vallet, J.-C. 1993. Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. *In: Étude FAO Production et Santé Animales*, Roma, Itália, 193 p.
- Bartlewski, P.M., Alexander, B.D. e King, W.A., 2008. Ovarian and endocrine determinants of superovulatory responses in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, 75, 210-216.
- Bartlewski, P.M., Baby, T.E. e Giffin, J.L. 2011. Reproductive cycles in sheep. *Animal Reproduction Science*, 124: 259-268.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Cook, S.J., Chandolia, R.K., Honaramooz, A. e Rawlings, N.C. 1999. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *Journal of Reproduction and Fertility*, 115: 111-124.
- Bartlewski, P.M., Sohal, J., Paravinja, V., Baby, T., Oliveira, M.E.F., Murawski, M. e Keisler, D.H. 2017. Is progesterone the key regulatory factor behind ovulation rate in sheep? *Domestic Animal Endocrinology*, 58: 30-38.
- Becker, J.B. 2002 Hormonal influences on female sex behavior. *In: Behavioral endocrinology*, Cambridge, Michigan, EUA.
- Berlinguer, F., Gonzalez-Bulnes, A., Succu, S., Leoni, G., Mossa, F., Bebbere, D., Ariznavarreta, C., e Tresguerres, J.A.F. 2007. Effects of progestagens on follicular growth and oocyte developmental competence in FSH-treated ewes. *Domestic Animal Endocrinology*, 32: 303-314.
- Bernardini, A., Hozbor, F., Sanchez, E., Fornés, M.W., Alberio, R.H. e Cesari, A., 2011. Conserved ram seminal plasma proteins bind to the sperm membrane and repair cryopreservation damage. *Theriogenology*, 76, 436-447.
- Bettencourt, E.M.V. 1999. Caracterização de parâmetros reprodutivos nas raças ovinas Merina Branca, Merina Preta e Campaniça. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal, 106 pp. (Tese de Mestrado)
- Bicudo, S.D., Azevedo, H.C., Maia, M.S., Sousa, D.B. e Rodello, L. 2005. Aspectos peculiares da inseminação artificial em ovinos. *Acta Science Veterinary*, 33: 127-130.
- Biehl, M.V., Ferraz Junior, M.V.C., Ferreira, E.M., Polizel, D.M., Miszura, A.A., Barroso, J.P., Oliveira, G.B., Bertoloni A.L. e Pires, A.V. 2017. Effect of reproductive methods and GnRH administration on long-term protocol in Santa Ines ewes. *Tropical Animal Health and Production*, 49: 1303-1308.

- Binkley, S.A., 1995. Endocrinology. Harper Collins College Publishers, Nova Iorque, EUA, 539 pp.
- Bister, J.L. e Paquay, R., 1983. Fluctuations in the plasma levels of folliclestimulating hormone during estrous cycle, anestrus, gestation and lactation: evidence for an endogenous rhythm of FSH release. *Theriogenology*, 19, 565-582.
- Bolet, G. 1986. Timing and extent of embryonic mortality in pigs, sheep and goats: genetic variability. *In: Embryonic mortality in farm animals*, J.M. Sreenan e M.G. Diskin (Eds), Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Holanda, 12-43.
- Buckrell, B.C., Halbert, G.W., Gartley, C.J. e Bretzlaff, K.N. 1991. Artificial insemination of small ruminants. *Theriogenology*, 10: 87-91.
- Bukar, M.M., Yusoff, R., Haron, A.W., Dhaliwal, G.K., Khan, M.A.G e Omar, M.A., 2012. Estrus response and follicular development in Boer does synchronized with flugestone acetate and PGF2 α or their combination with eCG or FSH. *Tropical Animal Health Production*, 44, 1505-1511.
- Cabrera, C., Maier, G.U., Cuneo, M. e McNabb, B.R. 2019. The use of progesterone intravaginal devices is superior to use of the ram effect at hastening the reproductive performance in transitional Targhee ewes. *Theriogenology*, 128: 17-22.
- Cam, M. e Kuran, M. 2004. Effects of a single injection of hCG or GnRH agonist on day 12 post mating on fetal growth and reproductive performance of sheep. *Animal Reproduction Science*, 80: 81-90.
- Câmara, D.R. e Guerra, M.M.P. 2011. Refrigeração e criopreservação do sêmen ovino: danos inerentes à técnica e influência da suplementação do meio com antioxidantes sobre a qualidade espermática. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 35 (1): 33-40.
- Campbell, J.A., Harvey, T.G., McDonald, M.F. e Sparksman, R.I. 1996. Transcervical insemination in sheep: An anatomical and histological evaluation. *Theriogenology*, 45: 1535-1544.
- Candappa, I.B.R. e Bartlewski, P.M. 2011. A review of advances in artificial insemination (AI) and embryo transfer (ET) in sheep, with the special reference to hormonal induction of cervical dilation and its implications for controlled animal reproduction and surgical techniques. *Open Reproduction Science Journal*, 3: 162-175.
- Cebrián, J.A.P., Muiño, M.T.B., Pérez, R.P. e Casao, A.G. 2010a. Obtención del semen. *In: Manejo reproductivo en ganado ovino*. A.M. Abecia e F. Forcada (Eds), Editora Servet, Saragoça, Espanha, 195 pp.
- Cebrián, J.A.P., Muiño, M.T.B., Pérez, R.P. e Casao, A.G., 2010b. Manejo e conservación del semen. *In: Manejo reproductivo en ganado ovino*. A.M. Abecia e F. Forcada (Eds), Editora Servet, Saragoça, Espanha, 195 pp.
- Chabel, J. C., Van Onselen, V. J., Morais, M.G., Cortada Neto, I.M. e Tedeschi, B.P. 2009. Efeito de um complexo homeopático “Homeobase Convert H[®]” em ovinos sob condições de restrição alimentar. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 46 (5): 412-423.
- Chemineau P., Bodin, L., Migaud, M., Thiery, J. e Malpaux, B. 2010. Neuroendocrine and genetic control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reproduction in Domestic Animals*, 45: 42-49.

- Chemineau, P., Daveau, A., Maurice, F. e Delgadillo, J.A. 1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. *Small Ruminant Research*, 8 (4): 299-312.
- Chemineau, P., Guillaume, D., Migaud, M., Thiery, J., Pellicer-Rubio, M. e Malpaux B. 2008. Seasonality of reproduction in mammals: intimate regulatory mechanisms and practical implications. *Reproduction in Domestic Animals*, 43: 40-47.
- Chemineau, P., Malpaux, B., Guž Rin, Y., Maurice, F., Daveau, A. e Pelletier, J. 1992. Lumière et mélatonine pour la maitrisé de la reproduction des ovins et des caprins. *Annales de Zootechnie*, 41: 247-261.
- Chemineau, P., Pellicer-Rubio, M.T., Lassoued, N., Khaldi, G. e Monniaux, D. 2006. Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. *Reproduction Nutrition Development*, 46: 417-429.
- Cognié, Y., 1988. Nouvelles méthodes utilisées pour améliorer les performances de reproduction chez les ovins. *INRA Productions Animales*, 1 (2): 83-92.
- Conradi, A. 2018. Sincronização da actividade ovárica e inseminação artificial em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Efeitos da administração de melatonina exógena, de um tratamento progestagénico curto + eCG, de dois diluidores seminais e de duas técnicas de preservação do sémen. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 78 p. (Tese de Mestrado)
- Conradi, A., Correia, T., Mateus, Ó., Quintas, H., Maurício, R., Francisco, L., Fornazari, R., Pereira, F., Álvaro, A. e Valentim, R. 2017. Controlo reprodutivo e inseminação artificial com sémen refrigerado em ovelhas da raça Lacaune. In: II Congresso Nacional de Escolas Superiores Agrárias, Escola Superior Agrária de Elvas, Elvas, Portugal, 227-228.
- Contreras-Solis, I., Vasquez, B., Diaz, T., Letelier, C., Lopez-Sebastian, A. e Gonzalez-Bulnes, A. 2009. Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and “male effect”. *Theriogenology*, 71: 1018-1025.
- Correia, T.M.M.A.A. 1996. Contributo para o estudo da sazonalidade reprodutiva das ovelhas da raça autóctone portuguesa Churra Galega Bragançana. Centro Internacional de Altos Estudos Agronómico Mediterrânico/Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (CIHEAM-IAMZ), Saragoça, Espanha, 84 pp. (Tese de Mestrado)
- Cox, J.F., Allende, R., Lara, E., Leiva, A., Díaz, T., Dorado, J. e Saravia, F. 2012. Follicular dynamics, interval to ovulation and fertility after AI in short-term progesterone and PGF_{2α} oestrous synchronization protocol in sheep. *Reproduction in Domestic Animals*, 47: 946-951.
- Crilly, J.P., Politis, A.P. e Hamer, K. 2017. Use of ultrasonographic examination in sheep veterinary practice. *Small Ruminant Research*, 152: 166-173.
- Cruz Jr, C.A. 2006. Caracterização anatômica e histológica da cérvix de ovelhas da raça Santa Inês. Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil, 45 p.
- Cseh, S., Faigl, V. e Amiridis, G.S. 2012. Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. *Animal Reproduction Science* 130 (3): 187-192.
- Dal, G.E., Enginler, S.Ö., Baykal, K. e Sabuncu, A.B. 2019. Early pregnancy diagnosis by semiquantitative evaluation of luteal vascularity using power Doppler ultrasonography in sheep. *Acta Veterinaria Brno*, 88: 19-23.

- David, I., Kohnke, P., Lagriffoul, G., Praud, O., Plouarboué, F., Degond, P. e Druart, X. 2015. Mass sperm motility is associated with fertility in sheep. *Animal Reproduction Science*, 161: 75-81.
- de Graaff, W. e Grimard, B. 2018. Progesterone-releasing devices for cattle estrus induction and synchronization: Device optimization to anticipate shorter treatment durations and new device developments. *Theriogenology*, 112: 34-43.
- De Rensis, F., Saleri, R., Tummaruk, P., Techakumphu, M. e Kirkwood, R. 2011. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ and control of reproduction in female swine: A review. *Theriogenology*, 77: 1-11.
- Degen, A.A. e Benjamin, R.W. 2003. Milk intake and growth rate of Awassi lambs suckling ewes grazing on natural pasture in the semi-arid Negev. *Animal Science*, 76: 455-460.
- Dendena, M.W. 2017. Controlo da actividade reprodutiva e inseminação artificial em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 52 pp. (Tese de Mestrado)
- Dias, L.M.K., Barros, M.B.P. de, Viau, P., Sales, J.N.S., Valentim, R., Santos, F.F. dos, Cunha Jr., M.C. da, Marino, C.T. e Oliveira, C.A. de 2015. Effect of a new device for sustained progesterone release on the progesterone concentration, ovarian follicular diameter, time of ovulation and pregnancy rate of ewes. *Animal Reproduction Science*, 155: 56-63.
- Doize, F., Vaillancourt, D., Carabin, H. e Belanger, D. 1997. Determination of gestational age in sheep and goats using transrectal ultrasonographic measurement of placentomes. *Theriogenology*, 48: 449-460.
- Domínguez, M.P., Falcinelli, A., Hozbor, F., Sánchez, E., Cesari, A. e Alberio, R.H. 2008. Seasonal variations in the composition of ram seminal plasma and its effect on frozen-thawed ram sperm. *Theriogenology*, 69: 564-573.
- Donovan, A., Hanrahan, J., Kummer, E., Duffy, P. e Boland, M. 2004. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed at a natural or synchronized oestrus. *Animal Reproduction Science*, 84: 359-368.
- Donovan, A., Hanrahan, J.P., Lally, T., Boland, M.P., Lonergan, G.P. e O'Neil, D.J. 2001. AI for sheep using frozen-thawed semen. ARMIS 4047 Project Report, Under the Research Stimulus Fund; OPARDF Measure 5b.
- Driancourt, M.A., 2012. Chronogest CR e Folligon. In: http://www.merck-animal-health.com/binaries/Chronogest_and_Folligon-tcm50-262063.ppt.
- Drion, P.V., Furtoss, V., Baril, G., Manfredi, E., Bouvier, F., Pougnaud, J.L., Bernelas, D., Caugnon, P., McNamara, E.M., Remy, B., Sulon, J., Beckers, J.F., Bodin, L. e Lebouf, B. 2001. Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats: Effect on the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reproduction Nutrition Development*, 41: 401-412.
- Dunlap, K.A. 2018. Sheep. 2ª Edição, *Encyclopedia of Reproduction*, 656-666.
- Ehling, C., Wirth, P., Schindler, L., Haderler, K.-G., Döpke, H.-H., Lemme, E., Herrmann, D. e Niemann, H. 2003. Laparoscopic intrauterine insemination with different doses of fresh, conserved, and frozen-thawed semen for the production of ovine zygotes. *Theriogenology*, 60: 777-787.

- El-Shahat, K.H.M. e Alsafy A.M. 2009. The anatomical structures of sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating catheter into the uterine lumen. *Veterinary Medicine Journal of Giza*, 57 (2): 211-222.
- Eppleston, J. e Maxwell, W.C.M. 1993. Recent attempts to improve the fertility of frozen ram semen inseminated into the cervix. *Wool Sheep Breed*, 41: 291-302.
- Esmailzadeh, A.K., Dayani, O. e Mokhtari, M.S., 2009. Lambing season and fertility of fat-tailed ewes under an extensive production system are associated with liveweight and body condition around mating. *Animal Production Science*, 49 (12), 1086–1092.
- Ezzat, A.A., Ahmed, M.N., Elabdeen, M.A.E.Z. e Sabry. A.M. 2016. Estrus synchronization in Ossimi Sheep by progestins. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 51 (1): 207-214.
- Faigl, V., Vass, N., Javor, A., Kulcsár, M., Solti, L., Amiridis, G. e Cseh, S. 2012. Artificial insemination of small ruminants - A review. *Acta Veterinaria Hungarica*, 60 (1): 115-129.
- Fair, S., Meade, K.G., Reynaud, K., Druart, X. e De Graaf, S.P. 2019. The biological mechanisms regulating sperm selection by the ovine cervix. *Reproduction*, 158 (1): R1-R13.
- Farin, C.E., Moeller, C.L., Mayan, H., Gamboni, F., Sawyer, H. R. e Niswender, G.D. 1988. Effect of Luteinizing Hormone and human Chorionic Gonadotropin on cell populations in the ovine corpus luteum. *Biology of Reproduction*, 38 (2): 413-421.
- Fattah, A., Sharafi, M., Masoudi, R., Shahverdi, A., Esmacili, V. e Najafi, A. 2017. l-Carnitine in rooster semen cryopreservation: Flow cytometric, biochemical and motion findings for frozen-thawed sperm. *Cryobiology*, 74: 148-153.
- Fernandez, J., Bruno-Galarraga, M., Soto, A., de la Sota, R. L., Cueto, M., Gibbons, A. E. e Lacau-Mengido, I. 2017. Hormonal therapeutic strategy on the induction of accessory corpora lutea in relation to follicle size and on the increase of progesterone in sheep. *Theriogenology*, 105: 184-187.
- Fernandez, J., Bruno-Galarraga, M., Soto, A., de la Sota, R.L., Cueto, M.I., Lacau-Mengido, I. e Gibbons, A.E. 2018. Effect of GnRH or hCG administration on day 4 post insemination on reproductive performance in Merino sheep of North Patagonia. *Theriogenology*, 126: 63-67.
- Fernandez-Abella, D., Becu-Villalobo S.D., Lacau-Mengido, I.M., Villegas, N. e Bentancur, O., 1999. Sperm production, testicular size, serum gonadotrophins and testosterone levels in Merino and Corriedale breeds. *Reproduction Nutrition Development*, 39 (5-6), 617-624.
- Ferra, J.C. e Sereno, J.R.B. 2006. Inseminação artificial em ovinos. Editora D.D.E.C. Planaltina.
- Fleisch, A., Werne, S., Heckendorn, F., Hartnack, S., Piechotta, M., Bollwein, H., Thun, R. e Janett, F. 2012. Comparison of 6-day progestagen treatment with Chronogest® CR and Eazi-breed™ CIDR® G intravaginal inserts for estrus synchronization in cyclic ewes. *Small Ruminant Research*, 107: 141-146.
- Fonseca, J.F. da, Cruz, R.C., Pinto P. H.N. e Facó, O. 2010. Inseminação artificial em pequenos ruminantes. *In: I Workshop sobre Ciência Animal na Bahia, BA-UESC, Ilhéus, Bahia, Brasil*, 1-30.

- Fonseca, J.F., Souza-Fabjanb, J.M.G., Oliveira, M.E.F., Cruzd, R.C., Esteves, L.V., Matos de Paiva, M.P.S.L., Brandão, F.Z. e Mancio, A.B., 2017. Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestagen-based estrous induction protocols with diferente gonadotropins. *Reproductive Biology*, 17 (4), 363-369.
- Forcada, F., Sánchez-Prieto, L., Casao, A., Palacín, I., Cebrián-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T. e Abecia, J.A. 2012. Use of laparoscopic intrauterine insemination associated with a simplified superovulation treatment for *in vivo* embryo production in sheep: A preliminary report. *Animal Production Science*, 52 (12): 1111-1116.
- Fornazari, R. 2018. Controlo reprodutivo e inseminação artificial com sémen 65 fresco e refrigerado em ovelhas Awassi x Sarda em maio. Efeitos da administração de melatonina exógena, de tratamentos progestagénicos curtos, de diluidores seminais e de técnicas de preservação do sémen. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 89 pp. (Tese de Mestrado)
- Freitas, V.J. de F. e Rubianes, E. 2004. Preparación de las hembras. Detección e control del estro y de la ovulación. *In: Reproducción ovina y caprina*. E.G. Aisen (Ed), Intermédica Editora, São Paulo, Brasil, 216 p.
- Galal, S., Gürsoy, O. e Shaat, I. 2008. Awassi sheep as a genetic resource and efforts for their genetic improvement - A review. *Small Ruminant Research*, 79: 99-108.
- Garcia, A.J.D., Landete, T.C. e Gallego, L.M. 2004. Manejo reproductivo para la producción de carne y leche. *In: Reproducción ovina y caprina*, E.G. Aisen (Ed), Intermédica Editora, São Paulo, Brasil, 216 p.
- Gatti, M., Zunino, P., e Ungerfeld, R. 2011. Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load after treatment with intravaginal sponges in anoestrous ewes: effect of medroxyprogesterone acetate and antibiotic treatment use. *Reproduction in Domestic Animals*, 46: 205-208.
- Gibbons, A.E., Fernandez, J., Bruno-Galarraga, M.M., Spinelli, M.V. e Cueto, M.I. 2019. Technical recommendations for artificial insemination in sheep. *Animal Reproduction*, 16 (4): 803-809.
- Gonçalves, P.B.D., Figueiredo, R. e Freitas, V.J.F. 2008. Biotécnicas aplicadas á reprodução animal. 2ª Edição, Editora Roca, São Paulo, Brasil, 83-103.
- Gonzalez-Bulnes, A., Garcia, P., Veiga-Lopez, A., Garcia-Garcia, R.M., Ariznavarreta, C. e Sanchez, A. 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*, 63: 2523-2534.
- Gonzalez-Bulnes, A., Menchaca, A., Martin, G. e Martinez, P. 2020. Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep oestrous cycle: where we are and where we should go. *Reproduction Fertility and Development*, 32: 441-452.
- Gonzalvez-Bulnes, A., Vázquez, M.I. e Pallarés, P., 2010. Métodos de control del ciclo sexual. Progestagenos y prostaglandinas. *In: Manejo reproductivo en ganado ovino*. A.M. Abecia e F. Forcada (Eds), Editora Servet, Saragoça, Espanha, 195 pp.
- Gordon, I. 1997. Controlled reproduction in sheep and goats. *Controlled reproduction in farm animals series*, Vol. 2, CAB International, Cambridge, Reino Unido, 450 p.

- Granados, L.B.C., Dias, A.J.B. e Sales, M.P. 2006. Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos. *In: Capacitação dos técnicos e produtores do Norte e Noroeste Fluminense em reprodução de caprinos e ovinos*, Rio de Janeiro, Brasil, 54 p.
- Gürsoy, O. 2005. Small ruminant breeds of Turkey. *In: Characterization of the small ruminant breeds in West Asia, North Africa*. L. Iniguez (Ed), International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Alepo, Síria, 239-416.
- Gürsoy, O. 2011. Awassi and its possible rural development role in Africa and Asia. *Macedonian Journal of Animal*, 1: 305-316.
- Hafez, E.S.E. e Hafez, B. 2004. Ciclos Reprodutivos. *In: Reprodução animal*. E.S.E. Hafez e B. Hafez (Eds), 7ª Edição, Editora Manole, Barueri, Brasil, 531 p.
- Hailat, N. 2005. Small ruminant breeds of Jordan. *In: Characterization of Small Ruminant Breeds in West Asia, North Africa*. L. Iniguez (Ed), International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Alepo, Síria, 30-61.
- Halbert, G.W., Dobson, H., Walton, J.S. e Buckrell, B.C. 1990. The structure of the cervical canal of the ewe. *Theriogenology*, 33: 977-992.
- Hall, D.G., Fogarty, N.M. e Gilmour, A.R., 1986. Seasonality of ovulation and estrus and the ram effect in Poll Dorset ewes. *Theriogenology*, 25, 455.
- Hamra, A.H., Massri, Y.G., Marcek, J.M., e Wheaton, J.E. 1986. Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone controlled internal drug release dispensers, implants and sponges. *Animal Reproduction Science*, 11: 187-194.
- Hamra, A.H., McNally, J.W., Marcek, J.M., Carlson, K.M. e Wheaton, J.E. 1989. Comparison of progesterone sponges, cronolone sponges, and controlled internal drug release dispensers on fertility in anestrous ewes. *Animal Reproduction Science*, 18: 219-226.
- Hashim, N.H., Syafnir e Sembiring, M. 2013. Time of PMSG administration: Effect on progesterone and estradiol concentration in synchronized ewes. *Biomedical Research*, 24 (1): 7-12.
- Hawken, P.A., Beard, A.P., Esmaili, T., Kadokawa, H., Evans, A.C.O., Blache, D. e Martin, G.B. 2007. The introduction of rams induces an increase in pulsatile LH secretion in cyclic ewes during the breeding season. *Theriogenology*, 68: 56-66.
- Hernández Ballesteros, J.A., Navarrete Méndez, R., Benítez Meza, J.A., Moreno Flores, L.A., Gómez Gurrola, A., Bernal e Partida, M.A. 2015. Fertilidad con el uso de inseminación artificial en ovejas. *Editorial BM, Entorno Ganadero*, vol. 71, São Paulo, Brasil.
- Honnappagol, S.S. e Tandle, M.K. 2010. Artificial insemination and treatment of infertility in dairy animals. *NIPA, Chandigarh, Índia*, 168 p.
- Ibrahim, S. 1997. Seasonal variations in semen quality of local and crossbred rams raised in United Arab Emirates. *Animal Reproduction Science*, 49: 161-167.
- Ishida, N., Okada, M., Sebata, K., Minato, M. e Fukui, Y. 1999. Effects of GnRH and hCG treatments for enhancing corpus luteum function to increase lambing rate of ewes artificially inseminated during the non-breeding season. *Journal of Reproduction and Development*, 45: 73-79.
- Jiménez-Rabadán, P., Morrell, J.M., Johannisson, A., Ramona, M., Garcia-Alvarez, O., Maroto-Morales, A., Alvaro-Garcia, P.J., Perez-Guzman, M.D., Fernandez-Santos, M.R., Garde, J.J. e Soler, A.J. 2012b. Single layer centrifugation (SLC) improves sperm quality

- of cryopreserved Blanca-Celtiberica buck semen. *Animal Reproduction Science*, 136: 47-54.
- Jiménez-Rabadán, P., Ramón, M., García-Álvarez, O., Maroto-Morales, A., del Olmo, E., Pérez-Guzmán, M.D., Bisbal, A., Fernández-Santos, M.R., Garde, J.J. e Soler A.J., 2012a. Effect of semen collection method (artificial vagina vs. electroejaculation), extender and centrifugation on post-thaw sperm quality of Blanca-Celtibérica buck ejaculates. *Animal Reproduction Science*, 132: 88-95.
- Jiménez-Rabadán, P., Soler, A.J., Ramón, M., García-Álvarez, O., Maroto-Morales, A., Iniesta-Cuerda, M., Fernández-Santos, M.R., Montoro, V., Pérez-Guzmán, M.D. e Garde, J.J. 2016. Influence of semen collection method on sperm cryoresistance in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 167: 103-108.
- Johnson, S.K., Dailey, R.A., Inskeep, E.K., e Lewis, P.E. 1996. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology*, 13: 69-79.
- Jones, A.K., Gately, R.E., McFadden, K.K., Zinn, S.A., Govoni, K.E. e Reed, S.A. 2016. Transabdominal ultrasound for detection of pregnancy, fetal and placental landmarks, and fetal age before day 45 of gestation in the sheep. *Theriogenology*, 85: 939-945.
- Kaabi, M., Alvarez, A., Anel, E., Chamorro, C.A., Boixo J.C., Paz P. e Anel L. 2006. Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: a postmortem study. *Theriogenology*, 66: 1876-1883.
- Kahn, W. 2004. Veterinary reproductive ultrasonography: horse, cattle, sheep, goat, pig, dog, cat. Hannover, Holanda, 187-212.
- Karami, H., Seyedhashemi, S., Torki, M., Kelidari, H. e Abdolmohammadi, A. 2012. Effects of repeated administration of hCG on follicular and luteal characteristics and serum progesterone concentrations in eCG-superovulated Sanjabi ewes. *Tropical animal health and production*, 44 (8): 1865-1871.
- Karikari, P.K. e Blasu, E.Y. 2009. Influence of nutritional flushing prior to mating on the performance of West African Dwarf goats mated in the rainy season. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8 (7): 1068-1073.
- Kershaw, C.M., Khalid, M., McGowan, M.R., Ingram, K., Leethongdee, S., Wax, G. e Scaramuzzi, R.J. 2005. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*, 64 (5): 1225-1235.
- Kittok, R.J., Stellflug, J.N. e Lowry, S.R. 1983. Enhanced progesterone and pregnancy rate after gonadotropin administration in lactating ewes. *Journal of Animal Science*, 56 (3): 652-655.
- Knights, M., Maze, T.D., Bridges, P.J., Lewis, P.E. e Inskeep, E.K. 2001. Short-term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrus ewes. *Theriogenology*, 55: 1181-1191.
- Kridli, R.T., Abdullah, Y.A., Shaker, M.M. e Al-Smadi, N.M. 2007. Reproductive performance and milk yield in Awassi ewes following crossbreeding. *Small Ruminant Research*, 71: 103-108.

- Küçük, N., Aksoy, M., Uçan, U., Ahmad, E., Naseer, Z., Ceylan, A. e Serin, I. 2014. Comparison of two different cryopreservation protocols for freezing goat semen. *Cryobiology*, 68 (3): 327-331.
- Kukovics, S., Gyökér, S., Németh, T. e Gergátz, E. 2011. Artificial insemination of sheep – possibilities, realities and techniques at the farm level. *In: Veterinary medicine and science*, M. Manafi (Ed), InTech, Rijeka, Croácia, 312 p.
- Lashari, M.H. e Tasawar, Z. 2013. The effect of GnRH (Dalmarelin) given on day 12 post-mating on ovarian function and embryo development in lohi sheep at Southern Punjab, Pakistan. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences*, 11: 165-170.
- Leahy, T., Marti, J.I., Mendoza, N., Pérez-Pé, R., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J.A., Evans, G. e Maxwell, W.M.C. 2010. High pre-freezing dilution improves post-thaw function of ram spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, 119: 137-146.
- Leão, A.S.M. 2017. Controlo da actividade reprodutiva e inseminação artificial de cabras da raça Serrana – Ecótipo Transmontano. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 61 pp. (Tese de Mestrado)
- Leboeuf, B., Restall, B. e Salamon, S. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 62: 113-141.
- Ledesma, A., Fernández-Alegre, E., Cano, A., Hozbor, F., Martínez-Pastor, F. e Cesari, A. 2016. Seminal plasma proteins interacting with sperm surfacerevert capacitation indicators in frozen-thawed ram sperm. *Animal Reproduction Science*, 173: 35-41.
- Leethongdee, S., Khalid, M., Bhatti, A., Ponglowhapan, S., Kershaw, C.M. e Scaramuzzi, R.J. 2007. The effects of the prostaglandin E analogue Misoprostol and follicle-stimulating hormone on cervical penetrability in ewes during the peri-ovulatory period. *Theriogenology*, 67: 767-777.
- Legan, S.J., L'Anson, H., Filzgerald, B.P. e Akaydin Jr., M.S. 1985. Importance of short luteal phases in the endocrine mechanism controlling initiation of estrous cycles in anestrus ewes. *Endocrinology*, 117: 1530-1536.
- Letelier, C.A., Contreras-Solis, I., García-Fernández, R.A., Ariznavarreta, C., Tresguerres, J.A., Flores, J.M. e Gonzalez-Bulnes, A. 2009. Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are not significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. *Theriogenology*, 71: 676-682.
- Leyva, V., Buckrell, B.C., e Walton, J.S. 1998. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*, 50: 395-416.
- Lima, F.R.G. 2010. Pesquisa de novo método de congelação para sêmen de ovinos Santa Inês. Universidade Federal do Ceará/Universidade Federal da Paraíba/Universidade Federal Rural de Pernambuco, Fortaleza, Brasil, 121 pp. (Tese de Doutorado)
- López-Sebastian, A., González-Bulnes, A., Carrizosa, J.A., Urrutia, B., Díaz-Delfa, C., Santiago-Moreno, J. e Gómez-Brunet, A., 2007. New estrus synchronization and artificial insemination protocol for goats based on male exposure, progesterone and cloprostenol during the non-breeding season. *Theriogenology*, 68, 1081-1087.
- Lucena, J.A.O. 2010. Inseminação artificial em ovinos. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Brasil, 50 pp. (Tese de Doutorado)

- Maeini, I.M.M., Maghaddam, A.A., Bahira, A. e Hajarian, I.H. 2007. Effects of breed and progestin source on estrus synchronization and rates of fertility and fecundity in Iranian Sanjabi and Lori Ewes. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (21): 3801-3807.
- Maia, M.S. 2010. Tecnologia do sêmen e inseminação artificial em caprinos e ovinos. EMPARN, Natal, Brasil, 95 p.
- Maitra, A., Sharma, R., Ahlawat, S., Tandia, M.S., Roy, M. e Prakash V. 2014. Association analysis of polymorphisms in caprine *Kiss1* gene with reproductive traits. *Animal Reproduction Science*, 151: 71-77.
- Malejane, C.M., Greyling, J.P.C. e Raito, M.B. 2014. Seasonal variation in semen quality of dorper rams using different collection techniques. *South Africa Journal of Animal Science*, 44: 26-32.
- Manes, J., Fiorentino, M.A., Kaiser, G., Hozbor, F., Alberio, R., Sanchez, E., Paolocchi, F. 2010. Changes in the vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes. *Small Ruminant Research*, 94: 201-204.
- Manes, J., Fiorentino, M.A., San Martino, S. e Ungerfeld, R. 2018. Changes in the vaginal microbiota in ewes after insertion of intravaginal sponges at different stages of the oestrous cycle. *Livestock Science*, 208: 55-59.
- Manes, J., Hozbor, F., Alberio, R., Ungerfeld, R. 2014. Intravaginal placebo sponge affects negatively the conception rate in sheep. *Small Ruminant Research*, 120: 108-111.
- Manes, J., Ríos, G., Fiorentino M.A. e Ungerfeld, R. 2016. Vaginal mucus from ewes treated with progestogen sponges affects quality of ram spermatozoa. *Theriogenology*, 85: 856-861.
- Martemucci, G. e D'Alessandro, A.G. 2011. Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF_{2α}, GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. *Animal Reproduction Science*, 123 (1-2): 32-39.
- Martin, G.B. 1984. Factors affecting the secretion of luteinizing hormone in the ewe. *Biology Review*, 59: 1-87.
- Martin, G.B. 1995. Reproductive research on farm animals for Australia – some long-distance goals. *Reproduction, Fertility and Development*, 7: 967-982.
- Martinez-Ros, P., Astiz, S., Garcia-Rosello, E., Rios-Abellan, A., e Gonzalez-Bulnes, A. 2018. Effects of short-term intravaginal progestagens on the onset and features of estrus, preovulatory LH surge and ovulation in sheep. *Animal Reproduction Science*, 197: 317-323.
- Martins, G., Figueira, B., Penna, B., Brandão, F., Varges, R., Vasconcelos, C. e Lilenbaum, W. 2009. Prevalence and antimicrobial susceptibility of vaginal bacteria from ewes treated with progestin-impregnated intravaginal sponges. *Small Ruminant Research*, 81: 182-184.
- Masoudi, R., Zare Shahneh, A., Towhidi, A., Kohram, H., Akbarisharif, A. e Sharafi, M. 2017. Fertility response of artificial insemination methods in sheep with fresh and frozen-thawed semen. *Cryobiology*, 74: 77-80.
- Mateus, O., Correia, T., Maurício, R., Pereira, F., Quintas, H., Carloto, A., Dendena, M. e Valentim, R. 2016. Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos. *In: Redovicapra*, ACOB/ANCRAS, Bragança/Mirandela, Portugal, 22 pp.

- Mateus, O.J.P. 2014. Controlo reprodutivo em ovelhas Awassi x Sarda. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 44 pp. (Tese de Mestrado)
- Matos, D.L., Araújo, A.A., Roberto, I.G. e Toniolli, R. 2008. Análise computarizada de espermatozoides: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 32: 225-232.
- Matthews, N., Bester, N. e Schwalbach, L.M.J. 2003. A comparison of ram semen collected by artificial vagina and electro-ejaculation. *SA-Animal Science*, 4: 28-30.
- Maurel, M., Roy, F., Herve, V., Bertin, J., Vaiman, D., Cribiu, E., Manfredi, E., Bouvier, F., Lantier, I., Boue, P. e Guillou, F. 2003. Immune response to equine Chorionic Gonadotropin used for the induction of ovulation in goats and ewes. *Gynécologie, obstétrique e fertilité*, 31: 766-769.
- Maxwell, M.C. e Salamon, S. 1993. Liquid storage of ram semen: a review. *Reproduction, Fertility and Development*, 5: 613-638.
- Mazariegos, V., Garrido, C., Vázquez, J.M. e Vicente, M.I. 2012. Obtención y valoración del semen en los centros de inseminación artificial. *In: Gestión integral del macho en las explotaciones de ovino y caprino*. L.M.M. Ferrer, J.J.A. Ramos e D.L. Lacasta (Eds), ICE Salud & Vet S.L., Barcelona, Espanha, 174 pp.
- McDonald, L.E., 1991. Veterinaria: Reproducción y endocrinología. 6ª Edição, Mejico D.F., México, 294-344.
- McKusick, B.C., Thomas, D.L., Gottfredson, R.G., Zelinsky, R.D. e Berger, Y.M. 1998. A comparison of transcervical and laparoscopic intrauterine artificial insemination techniques on reproductive performance of ewes. *In: Proceedings 46th Annual Spooner Sheep Day*, Universidade do Wisconsin-Madison, Wisconsin, EUA, 69-76.
- McNatty, K.P., Heath, D.A., Hudson, N., Clarke, I.J. 1990. Effect of long-term hypophysectomy on ovarian follicle populations and gonadotrophin-induced adenosine cyclic 3',5'-monophosphate output by follicles from Booroola ewes with or without the F gene. *Journal of Reproduction and Fertility*, 90: 515-522.
- Medeiros, C.M.O., Forell, F., Oliveira, A.T.D. e Rodrigues, J.L. 2002. Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better? *Theriogenology*, 57 (1): 327-344.
- Megan, P.T.C., Nicole, S.S., Amanda, K.A., Timothy, T.R. e Ryan, L.A. 2015. Human chorionic gonadotropin increases serum progesterone, number of corpora lutea and angiogenic factors in pregnant sheep. *Reproduction*, 150 (1): 43-52.
- Memon, A.A., Wahid, H., Rosnina, Y., Goh, Y.M., Ebrahimi, M. e Nadia, F.M. 2012. Effect of antioxidants on post thaw microscopic, oxidative stress parameter and fertility of Boer goat spermatozoa in tris egg yolk glycerol extender. *Animal Reproduction Science*, 136: 55-60.
- Menchaca, A. e Rubianes, E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, 16: 403-414.
- Menchaca, A., Cuadro, F., dos Santos-Neto, P.C., Bosolasco, D., Barrera, N., de Brun, V., e Crispo, M. 2018. Oocyte developmental competence is improved by relatively greater circulating progesterone concentrations during preovulatory follicular growth. *Animal Reproduction Science*, 195: 321-328.

- Menchaca, A., Vilarino, M., Pinczak, A., Kmaid, S. e Saldana, J.M. 2009. Progesterone treatment, FSH plus eCG, GnRH administration, and day 0 protocol for MOET programs in sheep. *Theriogenology*, 72: 477-483.
- Mirshamsollahi, A. 2016. Comparison of different methods of oestrus synchronization on reproductive performance of Farahani sheep in Iran. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6 (4): 849-853.
- Mohamad, S., Haron, A. W., Rosnina, Y., Abu Bakar, M. Z. e Abdul, M. 2014. Effect of high doses of equine chorionic gonadotrophin (eCG) treatments on follicular developments, ovulation and pregnancy rate in boer goats. *African Journal of Biotechnology*, 13: 1374-1378.
- Mohtar, M.S.M., Haron, A.W., Yussof, R., Bakar, M.Z.A. e Malik, A. 2014. Effect of high dosis of equine chorionic gonadotrophin (eCG) treatments on follicular developments, ovulation and pregnancy rate in Boer goats. *African Journal of Biotechnology*, 13 (12): 1374-1378.
- Molina, A., Gallego, L., Torres A. e Vergara, H., 1994. Effect of mating season and level of body reserves on fertility and prolificacy of Manchega ewes. *Small Ruminant Research*, 14 (3), 209-217.
- Morello, H.H. e Chemineau, P. 2004. Características anatómicas y funcionales del sistema reproductor de la hembra. *In: Reproducción ovina y caprina*, E.G. Aisen (Ed), ARG: Inter-Médica, Buenos Aires, Argentina, 11-24.
- Morrell, J.M. 2011. Artificial insemination: Current and future trends. *In: Artificial insemination in farm animals*. M. Manafi (Ed), InTech, Rijeka, Croácia, 312 p.
- Morris ST. 2009. Economics of sheep production. *Small Ruminant Research*, 86: 59-62.
- Morris ST. 2017. International perspectives in sheep production: differences in systems and welfare risks. *In: Advances in sheep welfare*, D. Ferguson, C. Lee e A. Fisher (Eds), Woodhead Publishing, Cambridge, RU, 318 p.
- Moses D., Martínez A.G., Iorio G., Valcárcel A., Ham A., Pessi H., Castanón R., Maciá A. e Heras M.A. 1997. A large-scale program in laparoscopic intrauterine insemination with frozen-thawed semen in Australian Merino sheep in Argentine Patagonia. *Theriogenology*, 48: 651-657.
- Motlomelo, K.C., Greyling, J.P.C. e Schwalbach, L.M.J. 2002. Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. *Small Ruminant Research*, 45 (1): 45-49.
- Moura, D.S., Lourenço, T.T., Moscardini, M.M., Scott, C., Fonseca, P.O. e Souza, F.F. 2011. Morphological aspects of ovine cervix. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 31 (Supl. 1): 33-38.
- Mylne, M.J.A., Hunton, J.R. e Buckrell, B.C. 1997. Artificial Insemination of sheep. *In: Current therapy in large animal theriogenology*. R.S. Youngquist (Ed), Saunders Company, St Louis, EUA, 898 p.
- Najafi, A., Daghigh Kia, H., Mohammadi, H., Najafi, M., Zanganeh, Z., Sharafi, M. e Martínez-Pastor, F. 2014. Different concentrations of cysteamine and ergothioneine improve microscopic and oxidative parameters in ram semen frozen with a soybean lecithin extender. *Cryobiology*, 69: 68-73.

- Nancarrow, C.D. 1994. Embryonic mortality in the ewe and doe. *In: Embryonic mortality in domestic species*, M.T. Zavy e R.D. Geisart, (Eds), CRC Press, Londres, RU, 79-97.
- Nephew, K., Cardenas, H., McClure, K., Ott, T., Bazer, F. e Pope, W. 1994. Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. *Journal of animal science*, 72: 453-458.
- Nikolovski, M., Atanasov, B., Dovenska, M., Petkov, V. e Dovenski, T. 2012. Variations in semen quality parameters of Ovchepolian Pramenka rams according to the method of collection and the meteorological season. *Macedonian Veterinary Review*, 35 (2): 79-86.
- Nöel, B., Bister, J.L., Pierquin, B., e Paquay, R. 1994. Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. *Theriogenology*, 41: 719-727.
- Nogueira, D.M., Júnior, E.S.L., Peixoto, R.M. de, Christilis, M., Martins, S.R. e Monte, A.P.O. do 2011. Using the same CIDR up to three times for estrus synchronization and artificial insemination in dairy goats. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 33 (3): 321-325.
- Nuti, L. 2007. Techniques for artificial insemination of goats. *In: Current therapy in large animal theriogenology*, R.S. Youngquist e W.R. Threlfall (Eds), 2ª Edição, Saunders-Elsevier, St. Louis, EUA, 529-534.
- O'Brein, A. 2002. Flushing the ewe flock: Is it beneficial? *In: Animal Science FactSheets*, Ministério da Agricultura e Alimentação, Ontário, Canadá, 2 p.
- O'Hara, L., Hanrahan, J.P., Richardson, L., Donovan, A., Fair, S., Evans, A.C.O. e Lonergan, P. 2010. Effect of storage duration, storage temperature, and diluent on the viability and fertility of fresh ram sperm. *Theriogenology*, 73: 541-549.
- Oliveira, J.K., Martins, G., Esteves, L.V., Penna, B., Hamond, C., Fonseca, J.F., Rodrigues, A.L., Brandão, F.Z. e Lilenbaum, W. 2013. Changes in the vaginal flora of goats following a short-term protocol of oestrus induction and synchronisation with intravaginal sponges as well as their antimicrobial sensitivity. *Small Ruminant Research*, 113: 162-166.
- Oliveira, M.E.F. 2009. Técnicas de inseminação artificial em ovinos e caprinos. http://www.farmpoint.com.br/tecnicas-deinseminacao-artificial-em-ovinos-ecaprinos_noticia_52391_3_30_.aspx
- Oliveira, M.E.F., Ayres, H., Oliveira, L.G., Barros, F.F.P.C., Oba, E., Bicudo, S.D., Bartlewski, P.M., Fonseca, J.F. e Vicente, W.R.R. 2016. Effects of season and ovarian status on the outcome of long-term progesterone-based estrus synchronization protocols and ovulatory follicle development in Santa Inês ewes under subtropical conditions. *Theriogenology*, 85: 452-460.
- Omontese, B.O., Rekwot, P.I. Rwaan, J.S., Ate, I.U. e Makun, H.J. 2014. Induction of oestrus in Nigerian Ouda ewes with different oestrus synchrony protocols. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 165 (7-8): 240-244.
- Ordóñez, V.C. 1966. Ganado ovino Sardo. Hojas de Divulgadoras, 2, Ministério da Agricultura, Madrid, Espanha, 20 p.
- Ozyurtlu, N., Kucukaslan, I. e Cetin, Y. 2010. Characterization of oestrous induction response, oestrous duration, fecundity and fertility in Awassi ewes during the non-breeding season utilizing both CIDR and intravaginal sponge treatments. *Reproduction in Domestic Animals*, 45:464-467.

- Pacheco, A., Oliveira, M.A.F., Quirino, C.R. e Landim, A.V. 2009. Características seminais de carneiros da raça Santa Inês na pré-puberdade, puberdade e pós-puberdade. *Ars Veterinária*, 25 (2): 90-99.
- Padilha, R.T. 2007. Indução do estro/ovulação e fertilidade em ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com diferentes dispositivos vaginais. Universidade Estadual do Ceará, Ceará, Brasil, 76 p.
- Palacín, I., Yániz, J.L., Fantova, E., Blasco, M.E., Quintín-Casorrán, F.J., Sevilla-Mur, E. e Santolaria, P., 2012. Factors affecting fertility after cervical insemination with cooled semen in meat sheep. *Animal Reproduction Science*, 132, 139-144.
- Palacios, C. e Abecia, J.A. 2015. Meteorological variables affect fertility rate after intrauterine artificial insemination in sheep in a seasonal-dependent manner: A 7-year study. *International Journal of Biometeorology*, 59: 585- 592.
- Palacios, C.R. 2010. Manejo del semen e inseminación artificial. In: Manejo reproductivo en ganado ovino. A.M. Abecia e F. Forcada. (Eds), Editora Servet, Saragoça, Espanha, 195 pp.
- Parhar, I.S., Ogawa S. e Ubuka, T. 2016. Reproductive neuroendocrine pathways of social Behavior. *Frontiers in Endocrinology*, 7: 1-8.
- Parkinson, T. 2009. Normal reproduction in male. In: Veterinary Reproduction and Obstetrics, D.E. Noakes, T.J. Parkinson e G.C.W. England (Eds), 9ª Edição, Saunders-Elsevier, Londres, RU, 681-806.
- Pérez-Clariget, R. e Porras, A.A. 2008. Ovinos. In: Reproducción de animales domésticos, C. Galina e J. Valencia (Eds), 3ª Edição, Limusa, México D.F., México, 582 p.
- Perkins, N.R., Hill, J.R. e Pedrana, R.G. 1996. Laparoscopic insemination of frozen-thawed semen into one or both uterine horns without regard to ovulation site in synchronized Merino ewes. *Theriogenology*, 46 (3): 541-545.
- Perry, K., Haresign, W., Wathes, D.C. e Khalid, M. 2010. Intracervical application of hyaluronan improves cervical relaxation in the ewe. *Theriogenology*, 74: 1685-1690.
- Pinna, A.E., Brandão, F.Z., Cavalcanti, A.S., Borges, A.M., Souza, J.M.G. e Fonseca, J.F. 2012. Reproductive parameters of Santa Inês ewes submitted to short-term treatment with re-used progesterone devices. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64: 333-340.
- Pollott, G.E. e Gootwine, E., 2004. Reproductive performance and milk production of Assaf sheep in an intensive management system. *Journal of Dairy Science*, 87: 3690-3703.
- Powell, M., Kaps, M., Lamberson, W. e Keisler, D. 1996. Use of melengestrol acetate-based treatments to induce and synchronize estrus in seasonally anestrous ewes. *Journal of Animal Science*, 74: 2292-2302.
- Ravindra, J.P. e Rawlings, N.C. 1997. Ovarian follicular dynamics in ewes during the transition from anoestrus to the breeding season. *Journal of Reproduction and Fertility*, 110: 279-289.
- Raynal, P. e Houdeau, E. 2004. Comparaison de l'activité réflexe de l'utérus au cours de l'insémination artificielle et de l'accouplement chez la brebis. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 33: 725-733.

- Ritar, A.J., Ball, P.D. e O'May, P.J. 1990. Examination of methods for the deep freezing of goat semen. *Reproduction, Fertility and Development*, 2 (1): 27-34.
- Robertson, S.A. 2005. Seminal plasma and male factor signaling in the female reproductive tract. *Cell Tissue Research*, 322: 43-52.
- Robinson, T.J. 1965. Use of progestagen-impregnated sponges inserted intravaginally or subcutaneously for control of the oestrous cycle in the sheep. *Nature*, 206: 39-41.
- Rojero, R.D.M., Reyna-Santamaria, L., Michel-Aceves, A.C., Mastache-Lagunas, A.A., Hernandez-Ignacio, J. e Rojas-Maya, S. 2009. Cervical or intrauterine artificial insemination in Pelibuey ewes, with chilled semen. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (12): 2621-2625.
- Romano, J. E. 1996. Comparison of fluorgestone and medroxyprogesterone intravaginal pessaries for estrus synchronization in dairy goats. *Small Ruminant Research*, 22 (3): 219-223.
- Romano, J.E. 2004. Synchronization of estrus using CIDR: FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Ruminant Research*, 55: 15-19.
- Romão, R. 2002. Efeito da melatonina em caracteres reprodutivos de carneiros das raças merina preta e campaniça. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, Portugal, 134 pp. (Tese de Mestrado)
- Rosasco, S.L., Beard, J.K., Hallford, D.M. e Summers, A.F. 2019. Evaluation of estrous synchronization protocols on ewe reproductive efficiency and profitability. *Animal Reproduction Science*, 210: 106191.
- Rubianes, E., Menchaca, A., Carbajal, B. 2003. Response of the 1-5 day aged ovine corpus luteum to prostaglandin F_{2α}. *Animal Reproduction Science*, 78: 47-55.
- Russel, A. 1985. Nutrition of the pregnant ewe. In *Practice*, 7: 23-29.
- Russel, A. 1991. Body condition scoring of sheep and goat. In: *Sheep and goat practice*. E. Boden (Ed), Bailliere-Tindall, Filadélfia, EUA, 272 p.
- Salama, A.A.K., Caja, G., Hamzaoui, S., Badaoui, B., Castro-Costa, A., Façanha, D.A.E., Guilhermino, M.M. e Bozzi, R. 2014. Different levels of response to heat stress in dairy goats. *Small Ruminant Research*, 121: 73-79.
- Salamon, S. e Maxwell, M.C. 2000. Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 62: 77-112.
- Salamonsen, L.A., Jonas, H.A., Burger, H.G., Buckmaster, J.M., Chamley, W.A., Cumming, I.A., Findlay, J.K. e Goding, J.R., 1973. A heterologous radioimmunoassay for Follicle-stimulating Hormone: application to measurement of FSH in the ovine estrous cycle and in several other species including man. *Endocrinology*, 93, 610-618.
- Salhab, S.A., Zarkawi, M., Wardeh, M.F., Al-Masri, M.R. e Kassem, R. 2003. Characterization and evaluation of semen in growing Awassi ram lambs. *Tropical Animal Health and Production*, 35: 455-463.
- Salmon, V.M., Castonguay, F., Demers-Caron, V., Leclerc, P. e Bailey, J.L. 2017. Cholesterolloaded cyclodextrin improves ram sperm cryoresistance in skim milk-extender. *Animal Reproduction Science*, 177: 1-11.

- Santolaria, P., Palacin, I. e Yaniz, J. 2011 Management factors affecting fertility in sheep. InTech, Rijeka, Croácia, 167-190.
- Santos-Neto, P.C. dos, Garcia-Pintos, C., Pinczak, A., e Menchaca, A. 2015. Fertility obtained with different progestogen intravaginal devices using short-term protocol for fixed-time artificial insemination (FTAI) in sheep. *Livestock Science*, 182: 125-128.
- Sariözkan, S., Bucak, M.N., Tuncer, P.B., Taşdemir, U., Kine, H. e Ulutaş, P.A. 2010. Effects of different extenders and centrifugation/washing on postthaw microscopic-oxidative stress parameters and fertilizing ability of Angora buck sperm. *Theriogenology*, 73: 316-323.
- Sayre, B.L. e Lewis, G.S. 1996. Cervical dilation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewes. *Theriogenology*, 45: 1523-1533.
- Scaramuzzi, R.J. e Martin, G.B. 2008. The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. *Reproduction Domestic Animal*, 43 (Suppl 2): 129-36.
- Schoenian, S. 2005. Reproduction in the ewe. In: <https://www.sheep101.info/201/ewerepro.html>
- Sebastian Lopez, A., 1989. Estacionalidad de la reproducción. *Ovis*, 1, 59-73.
- Senger, P.L. 2003. Pathways to pregnancy and parturition, 2ª Edição. Current Conceptions Inc., Pullman, Karnataka, Índia, 373 p.
- Sergeev, L., Kleeman, D.O., Walker, S.K., Smith, D.H., Grosser, T.I., Mann, T. e Seamark, R.F. 1990. Real-time ultrasound imaging for predicting ovine fetalage. *Theriogenology*, 34: 593-601.
- Shackell, G.H., Kyle, B. e Littlejohn, R.P., 1990. Factors influencing the success of a large scale insemination programme in sheep. In: *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 50, 427-430.
- Silva, T.P.D., Torreão, J.N. da C., Marques, C.A.T., Araújo, M.J. de, Bezerra, L.R., Dhanasekaran, K.D. e Sejian, V. 2016. Effect of multiple stress factors (thermal, nutritional and pregnancy type) on adaptive capability of native ewes under semi-arid environment. *Journal of Thermal Biology*, 59: 39-46.
- Simonetti, L. 2008. Simplificación de los métodos de superovulación en ovejas de la raza Corriedale. Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia, Valência, Espanha, 230 pp. (Tese de Doutorado)
- Simonetti, L., Forcada, F., Rivera, O.E., Carou, N., Alberio, R., Abecia, J.A. e Palacin, I. 2008. Simplified superovulatory treatments in Corriedale ewes. *Animal Reproduction Science*, 104: 227-237.
- Steyn, J.J. 2003. Application of artificial insemination (AI) on commercial sheep and goat production. In: *Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte*, 2. *Simpósio Internacional sobre Agronegócio da Caprinocultura Leiteira*, EMEPA-DA, João Pessoa, Brasil, 367-379.
- Suarez, G., Zunino, P., Carol, H. e Ungerfeld, R. 2006. Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load and assessment of the susceptibility to antibiotics after treatment with intravaginal sponges in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, 63: 39-43.

- Swelum, A. A., e Alowaimer, A. 2015. The efficacy of controlled internal drug release (CIDR) in synchronizing the follicular wave in dromedary camels (*Camelus dromedarius*) during the breeding season. *Theriogenology*, 84: 1542-1548.
- Swelum, A.A.-A., Saadeldin, I.M., Moumen, A.F., Ali, M.A., Ba-Awadh, H. e Alowaimer, A.N. 2018. Efficacy of using previously used controlled internal drug release (CIDR) insert on the reproductive performance, hormone profiles and economic measures of sheep. *Reproduction in Domestic Animals*, 53 (5): 1114-1122.
- Tabbaa, M.J., Kridli, R.T., Al-Ghalban, A. e Barakeh, F.S. 2006. Age related changes in scrotal circumference and some semen characteristics in Awassi rams. *Animal Reproduction*, 3: 431-438.
- Talafha, A. e Ababneh, M. 2011. Awassi sheep reproduction and milk production: Review. *Tropical Animal Health and Production*, 43: 1319-1326.
- Titi, H.H., Kridli, R.T. e Alnimer, M.A. 2010. Estrus synchronization in sheep and goats using combinations of GnRH, progestagen and prostaglandin F2alpha. *Reproduction in Domestic Animals*, 45: 594-599.
- Troedsson, M.H.T., Desvouses, A., Alghamdi, A.S., Dahms, B., Dow, C.A., Hayn, J., Valesco, R., Collahan, P.T., Macpherson, M.L., Pozor, M. e Buhi, W.C. 2005. Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. *Animal Reproduction Science*, 89: 171-186.
- Tsakmakidis, I.A. 2010. Ram semen evaluation: development and efficiency of modern techniques. *Small Ruminant Research*, 92: 126-130.
- Türk, G., Gür, S., Sönmez, M., Bozkurt, T., Aksu, E. e Aksoy, H. 2008. Effect of exogenous GnRH at the time of artificial insemination on reproductive performance of Awassi ewes synchronized with progestagen–PMSG–PGF_{2α} combination. *Reproduction in Domestic Animals*, 43 (3): 308-313.
- Ungerfeld, R. e Rubianes, E. 1999. Effectiveness of short-term progestagen primings for the induction of fertile estrus with eCG in ewes during late seasonal anestrus. *Animal Science*, 68: 349-353.
- Ungerfeld, R. e Rubianes, E. 2002. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, 46 (1): 63-66.
- Uribe-Velásquez, L.F., Cadavid, R.R. e Osorio, J.H., 2009. Respostas foliculares e endócrinas em ovelhas após sincronização do estro usando progesterona, prostaglandinas (PGF_{2α}) e gonadotrofinas. *Veterinária e Zootecnia*, 3 (2), 14-27.
- Ustuner, B., Günay, V., Nur, Z. e Ustuner, H. 2007. Effects of long and short term progestagen treatments combined with PMSG on oestrus synchronization and fertility in Awassi ewes during the breeding season. *Acta Veterinaria Brunensis*, 76: 391-397.
- Valentim, R., Correia, T.M. e Azevedo, J. 2006. Utilização de implantes de melatonina em ovinos. *Albeitar*, 2 (6), 18-22.
- Valentim, R., Fernandes, M., Azevedo, J., Mendonça, A., Almeida, J., Velasco, H., Simões, J., Fontes, P., Maurício, R., Cardoso, M. e Correia, T. 2009. Anticipación de la estación reproductiva en ovejas de la raza Churra Galega Bragançana. Inseminación artificial. *In: 34 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia*, Barbastro, Espanha, 403-407.

- Valentim, R., Rodrigues, I., Correia, T.M., Sacoto, S. e Azevedo, J. 2015a. Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos 4. Controlo da atividade reprodutiva - métodos naturais. *Agrotec*, 16: 25-27.
- Valentim, R., Rodrigues, I., Montenegro, T., Sacoto, S. e Azevedo, J. 2015b. Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos. 5. Controlo da atividade reprodutiva em pequenos ruminantes - métodos hormonais. *Agrotec*, 18: 25-28.
- Valentim, R., Rodrigues, I., Montenegro, T., Sacoto, S., Azevedo, J. e Gomes, M.J. 2016a. Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos. 6. Controlo da atividade reprodutiva em pequenos ruminantes – Flushing alimentar. *Agrotec*, 20: 12-15.
- Valentim, R., Rodrigues, I., Montenegro, T., Sacoto, S., Azevedo, J. e Gomes, M.J. 2016b. Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos. 7. Inseminação artificial em ovinos e caprinos. *Agrotec*, 21: 10-13.
- Valentim, R.C. 2004. Estudo da sazonalidade sexual em carneiros da Raça Churra Galega Bragançana. Vila Real, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal, 179 pp. (Tese de Doutoramento)
- Vasconcelos, C., Brandão, F.Z., Martins, G., Penna, B., Souza, J.M.G. e Lilenbaum, W. 2016. Qualitative and quantitative analysis of bacteria from vaginitis associated with intravaginal implants in ewes following estrus synchronization. *Ciência Rural*, 46: 632-636.
- Venâncio, D., 2012. Diferentes tratamentos de antecipação da estação reprodutiva em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 34 pp. (Tese de Mestrado)
- Vilariño, M., Rubianes, E. e Menchaca, A. 2013. Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, 79: 206-210.
- Vilariño, M., Rubianes, E., van Lier, E. e Menchaca, A. 2010. Serum progesterone concentrations, follicular development and time of ovulation using a new progesterone releasing device (DICO). *Small Ruminant Research*, 91: 219-224.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchero, G. e Rubianes, E. 2001. Effect of long-term and short-term progestogen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes, *Theriogenology*, 55: 993-1004.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Rubianes, E., 2000. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the ewe. *Proceedings of the 14th International Congress on Animal Reproduction*, 1, 26 (abstr).
- Viñoles, C., Meikle, A., Forsberg, M. e Rubianes, E. 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*, 51: 1351-1361.
- Viñoles, C., Paganoni, B., Milton, J.T.B., Driancourt, M.A. e Martin, G.B. 2011. Pregnancy rate and prolificacy after artificial insemination in ewes following synchronization with prostaglandin, sponge, or sponges with bactericide. *Animal Production Science*, 51: 565-569.
- Wheaton, J.E., Carlson, K.M., Windels, H.F. e Johnston, L.J. 1993. CIDR - A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, 33: 127-141.

- White, L.R., Russel, A.J. e Fowler, D.G. 1984. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and determination of foetal numbers in sheep. *Veterinary Record*, 115: 140-143.
- Willard, S.T. 2011. Reproduction, events and management: Estrous cycles: Seasonal breeders. *In: Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2ª Edição, 440-447.
- Windorski E.J., Schauer, C.S., Wurst, A.K., Inskeep, E.K. e Luther, J.S. 2008. Effects of melengestrol acetate and P.G. 600 on fertility in rambouillet ewes outside the natural breeding season. *Theriogenology*, 70: 227-232.
- Windsor, D.P., 1995. Factors influencing the success of transcervical insemination in merino ewes. *Theriogenology*, 43, 1009-1018.
- Yacoub, A., Gauly, M., Sohnrey, B. e Holtz, W. 2011. Fixed-time deep uterine insemination in PGF_{2α}-synchronized goats. *Theriogenology*, 76: 1730-1735.
- Yu, X.J., Wang, J. e Bai, Y.Y. 2018. Estrous synchronization in ewes: The use of progestogens and prostaglandins. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science*, 68 (4): 219-230.
- Zarkawi, M. 1997. Monitoring the reproductive performance in Awassi Ewes using progesterone radioimmunoassay. *Small Ruminant Research*, 26: 291-294.
- Zarkawi, M., Al-Merestani, M.R. e Wardeh, M.F. 1999. Induction of synchronized oestrous and early pregnancy diagnosis in Syrian Awassi ewes, outside the breeding season. *Small Ruminant Research*, 33: 99-102.
- Zelege, M., Greyling, J.P.C., Schwalbach, L.M.J., Muller, T. e Erasmus, J.A. 2005. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. *Small Ruminant Research*, 56 (1): 47-53.

Referências eletrônicas

1. http://bib.ge/sheep/sheep_breeds_open.php?id=3647 (Obtido em 25 de março de 2020).
2. <http://uk.3pecorini.com/the-breed/> (Obtido em 25 de março de 2020).