

UNIVERSIDADE DE FRANCA

UNIFRAN

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM OVELHAS

ORIENTADORA: Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza

PÓS-GRADUANDO: Phellipe de Oliveira Fonseca

Maio

2009

pdfMachine

A pdf writer that produces quality PDF files with ease!

Produce quality PDF files in seconds and preserve the integrity of your original documents. Compatible across nearly all Windows platforms, simply open the document you want to convert, click "print", select the "Broadgun pdfMachine printer" and that's it! Get yours now!

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PHELLIPE DE OLIVEIRA FONSECA

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM OVELHAS

Dissertação apresentada à Universidade de Franca, UNIFRAN, como exigência parcial, para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza

FRANCA

2009

pdfMachine

A pdf writer that produces quality PDF files with ease!

Produce quality PDF files in seconds and preserve the integrity of your original documents. Compatible across nearly all Windows platforms, simply open the document you want to convert, click "print", select the "Broadgun pdfMachine printer" and that's it! Get yours now!

Catálogo na fonte – Biblioteca Central da Universidade de Franca

F746i

Fonseca, Phellipe de Oliveira

Inseminação artificial em ovelhas / Phellipe de Oliveira Fonseca;
orientador: Fabiana Ferreira de Souza. – 2009
59 f. : 30 cm.

Dissertação de Mestrado – Universidade de Franca
Curso de Pós-Graduação Stricto Sensu – Mestre em Cirurgia e
Anestesiologia Veterinária

1. Inseminação artificial – Laparoscopia – Ovino. 2. Inseminação artificial – Ovelhas. 3. Inseminação artificial – Terbutalina. 4. Inseminação artificial – Misoprostol. 5. Cirurgia veterinária – Reprodução animal (biotecnologia). I. Universidade de Franca. II. Título.

CDU – 636.082.435.5:636.32/.38

pdfMachine

A pdf writer that produces quality PDF files with ease!

Produce quality PDF files in seconds and preserve the integrity of your original documents. Compatible across nearly all Windows platforms, simply open the document you want to convert, click "print", select the "Broadgun pdfMachine printer" and that's it! Get yours now!

PHELLIPE DE OLIVEIRA FONSECA

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM OVELHAS

Orientadora: _____
Nome: Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza
Instituição: Universidade de Franca – UNIFRAN

Examinador (a): _____
Nome: Prof. Dra. Celina Tie Nishimori Duque
Instituição: Universidade de Franca - UNIFRAN

Examinador (a): _____
Nome: Prof. Dra. Maria Isabel Mello Martins
Instituição: Universidade Estadual de Londrina - UEL

Franca, ____ / ____ / ____.

pdfMachine

A pdf writer that produces quality PDF files with ease!

Produce quality PDF files in seconds and preserve the integrity of your original documents. Compatible across nearly all Windows platforms, simply open the document you want to convert, click "print", select the "Broadgun pdfMachine printer" and that's it! Get yours now!

DEDICO aos meus pais, Eduardo Narciso e Rosana Reis, que sempre foram um exemplo de força e determinação.
Aos meus irmãos, Cecília e Bruno e aos meus cunhados, Fábio e Alessandra, por acreditarem e apoiarem este sonho.
À minha namorada e companheira, Marília, que esteve comigo nos momentos mais difíceis, apoiando e estimulando.
Aos meus familiares de quem sempre recebi incentivo, apoio e amizade.

pdfMachine

A pdf writer that produces quality PDF files with ease!

Produce quality PDF files in seconds and preserve the integrity of your original documents. Compatible across nearly all Windows platforms, simply open the document you want to convert, click "print", select the "Broadgun pdfMachine printer" and that's it! Get yours now!

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza, minha orientadora e amiga;
aos residentes do H.V. da UNIFRAN, Vitor Foroni Casas e Marcel Cavalcante Farras, aos alunos de iniciação científica Diego Souza Moura, Tarcísio Torre Lourenço, Murillo Mansano Moscardini e Juliana Bonamin de Castro;
ao Prof. Dr. Maurício Veloso Brun por toda ajuda e dedicação;
ao Prof. José Abdo Hellú Andrade pela valiosa ajuda dispensada;
aos proprietários da Fazenda Garça Branca, Profa. Antonella e Fernando pela confiança e dedicação imposta no trabalho;
ao Prof. Dr. Paulo Ricardo Monti e sua esposa Deise Laterza, pela valiosa assistência, sempre oportuna;
aos funcionários da Fazenda Garça Branca pelos serviços prestados;
ao meu grande amigo, Leonardo Resende, Médico Veterinário que me apoiou e me ajudou muito neste trabalho; e
aos Laboratórios Pfizer Ltda, Biotech, Intervet/Schering Plough Animal Health -SP, Brasil – que participaram fornecendo fármacos (Eazi - Breed CIDR®, Botu-Bov® e Folligon®) para a experimentação.
à Universidade de Franca pela disponibilidade do espaço físico e pela concessão de parte dos materiais utilizados

Não fiques embaixo, não subas muito alto, o mundo é sempre mais belo, visto à meia altura.

F. Nietzsche

pdfMachine

A pdf writer that produces quality PDF files with ease!

Produce quality PDF files in seconds and preserve the integrity of your original documents. Compatible across nearly all Windows platforms, simply open the document you want to convert, click "print", select the "Broadgun pdfMachine printer" and that's it! Get yours now!

RESUMO

FONSECA, Phellipe de Oliveira. **Inseminação artificial em ovelhas**. 2009. 58 f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Anestesiologia Veterinária) - Universidade de Franca, UNIFRAN.

Nos ovinos, vários métodos de inseminação artificial (IA) já foram descritos. Atualmente, dois métodos são mais utilizados a campo, a IA transcervical e a laparoscópica. Contudo, trata-se de métodos que implicam em desconforto ao animal, tais como o tracionamento da parede vaginal com uma pinça cirúrgica, lateral à cérvix, além da posição de Trendelenburg (céfalo declive, num ângulo de 30 a 45°). Desta forma, este estudo teve como objetivo estudar técnicas que proporcionassem maior conforto ao animal, durante o procedimento. Foram utilizadas 43 ovelhas, da raça Morada Nova, divididas em quatro grupos: 11 IA vaginal, 11 IA vaginal associada a dilatadores cervicais (misoprostol e terbutalina), 10 IA cervical e 11 IA laparoscópica em decúbito lateral. O ciclo estral foi sincronizado com progestágenos e gonadotropina coriônica eqüina (eCG). Nenhuma complicação foi observada durante ou após os procedimentos. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 30 e 60 dias após a IA. A taxa de gestação foi de 10% nas fêmeas inseminadas por via vaginal com e sem o uso de dilatadores e 54% nas fêmeas inseminadas por laparoscopia. Nenhuma fêmea inseminada pela via cervical apresentou-se gestante aos 30 e 60 dias. Conclui-se que a técnica de inseminação laparoscópica em decúbito lateral foi realizada com sucesso, reduziu o desconforto e apresentou taxa de gestação aceitável.

Palavra-chave: laparoscopia, ovino, inseminação artificial, misoprostol, terbutalina.

ABSTRACT

FONSECA, Phellipe de Oliveira. **Artificial insemination in sheep**. 2009. 58 p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Anestesiologia Veterinária) - Universidade de Franca, UNIFRAN.

In ovine, several methods to artificial insemination (A.I) were described. Currently, two methods were used in field, the transcervical and laparoscopy AI. However, these methods cause discomfort to the animal, as well as grasping the vaginal tissues, around the cervical opening with surgical forceps and Trendelenburg position (head-down, at an angle of 30° to 45°). Then, this study evaluated techniques that provide greater comfort to animal during the procedure. Forty three Morada Nova sheep were used. The females were divided into four groups: 11 vaginal AI, 11 vaginal AI associated with cervical relaxing (misoprostol and terbutaline), 10 cervical AI and 11 laparoscopic AI in lateral recumbency. The estrus cycles were synchronized using progestagen and equine chorionic gonadotropin (eCG). No complications were observed during or after the evaluations. The pregnancy diagnosis was performed at 30 and 60 days after AI. The pregnancy rate was 10% to vaginal insemination with and without cervical relaxing and 54% to laparoscopic insemination. No female inseminated by cervical method was pregnant. It was possible to conclude that the technique of laparoscopic insemination in lateral recumbency was used successfully to reduce the discomfort and showed pregnancy rates acceptable.

Key words: laparoscopy, ovine, artificial insemination, misoprostol, terbutaline.

pdfMachine

A pdf writer that produces quality PDF files with ease!

Produce quality PDF files in seconds and preserve the integrity of your original documents. Compatible across nearly all Windows platforms, simply open the document you want to convert, click "print", select the "Broadgun pdfMachine printer" and that's it! Get yours now!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Momento da colheita do sêmen	26
Figura 2 –	Cateter norueguês para inseminação artificial de cadelas.	28
Figura 3 –	Momento de preparação do animal para a cirurgia, em decúbito lateral na mesa de madeira (seta larga branca)	29
Figura 4 –	Local de introdução do primeiro (1) e segundo (2) trocarde na parede abdominal direita para I.A laparoscópica pelo acesso ventrolateral, sendo a distância entre os pontos de aproximadamente 5 cm. Seta branca indica o teto, linha pontilhada a distância e a linha contínua representa a linha média.	30
Figura 5 –	Posicionamento dos dois trocartes, nos quais foram posicionados a óptica e a pinça de manipulação uterina ou aplicador de sêmen.	32
Figura 6 –	Inseminação artificial por videolaparoscopia. Posicionamento do útero na cavidade abdominal para inseminação artificial (A); Pipeta de inseminação artificial acoplada a uma agulha, inserida no corno uterino (B)	33
Figura 7 –	Aplicador de sêmen com bainha e agulha (adaptada do vacutainer).1. Agulha retirada do vacutainer; 2. Aplicador de sêmen bovino; 3. Bainha que reveste o aplicador (utilizada para bovinos), posicionada atrás do limitador da bainha (a) Agulha protegida pelo limitador da bainha (b) aplicador pronto para inseminação evitando a perda da agulha para dentro da cavidade (c).	33

- Figura 8 –** Lesões de acesso dos portais, considerando as referências anatômicas, aproximadamente 12 cm, lateral à linha média do lado direito do animal e aproximadamente 8 cm cranialmente ao teto direito, acompanhando o sentido do anel inguinal. 34
- Figura 9 –** Ultra-sonografia do útero de uma ovelha gestante, após 40 dias da inseminação artificial por videolaparoscopia 35

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Temperatura média máxima e mínima e índice pluviométrico entre os meses de agosto e novembro de 2008, na região de Franca, SP 36
- Tabela 2** – Comparação da taxa de prenhez da técnica convencional com a nova técnica de inseminação laparoscópica 38

LISTA DE ABREVIATURAS

IA – Inseminação artificial

AI – Artificial insemination

eCG – Gonadotrofina coriônica eqüina

PGE₂ - Prostaglandina E₂

COX-2 - Ciclo-oxygenase-2

LH - Hormônio luteinizante

RNA_m – Ácido ribonucleíco mensageiro

FSH – Hormônio folículo estimulante

pdfMachine

A pdf writer that produces quality PDF files with ease!

Produce quality PDF files in seconds and preserve the integrity of your original documents. Compatible across nearly all Windows platforms, simply open the document you want to convert, click "print", select the "Broadgun pdfMachine printer" and that's it! Get yours now!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
1 REVISÃO DE LITERATURA	16
2 OBJETIVOS	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 ANIMAIS E MANEJO	24
3.2 SINCRONIZAÇÃO DO CIO.....	24
3.3 CONGELAÇÃO E DESCONGELAÇÃO DO SÊMEN	25
3.4 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL	26
3.4.1 VAGINAL.....	27
3.4.2 VAGINAL COM DILATADORES CERVICAIS.....	27
3.4.3 CERVICAL	28
3.4.4 LAPAROSCÓPICA	28
3.5 DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO	33
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
4 RESULTADOS	35
4.1 ANIMAIS E MANEJO	35
4.2 SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL	35
4.3 CONGELAÇÃO DO SÊMEN.....	36
4.4 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	36
5 DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48

INTRODUÇÃO

No Brasil, a criação e o mercado de carne de ovinos está em amplo crescimento (SIMPLÍCIO, 2007). Segundo IBGE (2006), o rebanho ovino no Brasil é de, aproximadamente, 13,9 milhões de cabeças. Apenas 5,6% está localizado na região Sudeste e 3,3% no estado de São Paulo, o que ainda torna possível a expansão dessa criação, no estado. No que diz respeito à participação no mercado mundial, a exportação de carne ovina passou de 2,3 mil toneladas em 1992 para 14,7 mil toneladas em 2000, representando um crescimento acima de 600 % (VASCONCELOS; VIEIRA, 2005).

Dentro da indústria dos animais de produção, a inseminação artificial (IA) é usada para aumentar a produção de descendentes de elevado valor genético, pela introdução de genótipos superiores, maximizando o uso de machos de alta qualidade (EVANS; MAXWELL, 1987). Além disso, a IA promove melhor manejo da propriedade, possibilitando ao produtor melhores resultados e maior produtividade, podendo ainda evitar a transmissão de doenças infecto-contagiosas. Estas vantagens são elevadas quando é possível realizar a IA com sêmen congelado, o qual pode ser adquirido em diferentes estados, regiões ou países. Contudo, especialmente nos ovinos, a taxa de concepção do sêmen, após a congelação, é baixa quando utilizados métodos de IA tradicionalmente aplicados em outras espécies, como a bovina. Para aumentar as taxas de fertilidade com o sêmen congelado é necessário depositar o sêmen no útero (SALAMON; MAXWELL, 1995). Para tal, a laparoscopia tem sido adotada como técnica de escolha para IA em ovinos, porém ainda não é utilizada em larga escala, em virtude do custo elevado, e por ser inacessível para técnicos não treinados (KERSHAW et al., 2005). Além disso, com o acesso laparoscópico, geralmente, a ovelha deve ser posicionada numa mesa, em decúbito dorso-obliquo, num ângulo de 30° a 60°, com os membros posteriores suspensos (KILLEN; CAFFERY, 1982), o que compromete o bem-estar animal.

A técnica alternativa ao acesso laparoscópico é a IA transcervical. Entretanto, a anatomia cervical da ovelha dificulta a passagem do aplicador pelo lúmen da cérvix para que o sêmen possa ser depositado no útero (EVANS; MAXWELL, 1987). Rotineiramente, isto implica em utilizar duas pinças teciduais Allis no fundo vaginal, lateral à cérvix, para tracioná-la até a abertura vulvar (*Guelph System*). Este procedimento é realizado sem qualquer tipo de anestesia, o que gera dor e desconforto ao animal.

Um importante fator para o sucesso da inseminação artificial em ovinos, com sêmen congelado, é desenvolver um método menos invasivo que a laparoscopia e que preserve o bem-estar animal, mantendo uma taxa de concepção aceitável comercialmente. Assim, a proposta deste estudo foi comparar quatro métodos de IA em ovelhas, três deles utilizando técnicas menos invasivas, os quais foram comparados à técnica de laparoscopia. Além disso, objetivou-se descrever a IA laparoscópica pelo acesso ventrolateral direito, também com o propósito de minimizar o desconforto das ovelhas, evitando-se a posição de Trendelenburg (céfalo declive, com os membros posteriores elevados).

1 REVISÃO DE LITERATURA

Com a crescente procura por produtos de origem caprina e ovina, houve aumento do número de empresários dispostos a investir nesta atividade. Nesse sentido a caprino-ovinocultura brasileira está se destacando no cenário brasileiro como atividade de grande impacto sócio-econômico (VASCONCELOS; VIEIRA, 2005).

Aliado a este crescimento está a aplicação de programas de melhoramento animal, nos quais a IA é a biotecnologia da reprodução que propicia maior amplitude de resultados. A adequada seleção dos atributos produtivos e reprodutivos de machos e fêmeas é a base essencial para a maximização do potencial dessa técnica como ferramenta de melhoramento. No entanto, além dessa característica primordial, a IA intensifica o manejo reprodutivo (BICUDO et al., 2000), principalmente quando aliada ao uso da criopreservação do sêmen.

A IA com sêmen congelado é fundamental em qualquer programa de ganho genético. Para isto, é essencial estar relacionada a altas taxas de gestação, que pode ser limitada pela técnica ou pela capacidade reprodutiva dos animais (MOSES et al., 1997). Nas ovelhas, as baixas taxas de gestação após a IA vaginal ou cervical, com sêmen congelado são inaceitáveis num programa de acasalamento (MAXWELL, HEWITT, 1986). Isto se deve, principalmente, pela dificuldade do espermatozóide, em atravessar a cérvix da ovelha após a congelação, (SALAMON, MAXWELL, 1995, MILCZEWSKI et al., 2000), fato que é agravado pela sincronização do ciclo estral, o qual reduz o transporte espermático através da cérvix (ARMSTRONG, EVANS, 1984).

A cérvix da ovelha é tubular longa, composta predominantemente por tecido fibroso e tecido conjuntivo. O lúmen é convoluto e tortuoso devido a presença de quatro a sete anéis cervicais, os quais possuem as extremidades voltadas para a região caudal, servindo como uma barreira física a contaminantes externos (DUN, 1955; FUKUI, ROBERTS, 1978; KAABI et al., 2006). Esta morfologia é um dos fatores que interferem na difusão da IA na

espécie ovina, o que dificulta a passagem da pipeta de inseminação pela cérvix. Além disso, traumas no tecido cervical, provocados pela manipulação, durante a IA, podem reduzir a fertilidade (STELLFLUG et al., 2001; WULSTER-RADCLIFFE, LEWIS, 2002).

O comprimento da cérvix da ovelha é de 5,7 a 10 cm e é influenciado pela raça, idade, número de partos e estado fisiológico (ABUSINEINA, 1969; KAABI et al., 2006; MOURA et al., 2008). Kershaw et al. (2005) encontraram diferenças no comprimento da cérvix e profundidade de penetração com cateter em ovelhas e borregas, durante a estação reprodutiva e o anestro estacional.

Moura et al. (2008) relataram uma correlação positiva ($r=0,48$, $p=0,0025$) entre o grau de integralidade e interdigitação dos anéis das pregas cervicais e o tempo gasto para a passagem do aplicador de sêmen. Além disso, estes autores encontraram uma correlação negativa ($r=-0,35$, $p=0,02$) entre o comprimento cervical e o tempo gasto para a passagem do aplicador seminal.

A morfologia da abertura cervical externa também difere entre as fêmeas ovinas, pois ela se projeta para dentro da vagina cranial e é recoberta por uma ou mais pregas de tecido fibroso (DUN, 1955). A ampla variação entre as fêmeas na anatomia cervical pode explicar os diferentes sucessos da IA por via transcervical (KERSHAW et al., 2005).

Outros fatores têm sido relacionados à taxa de penetração da cérvix de ovelhas tais como o intervalo do parto e a IA, número de partos, estro sincronizado ou natural e a estação do ano. Windsor (1995) estudou estes fatores e revelou que a taxa de penetração cervical não é afetada pelo aumento do intervalo entre o parto e a IA (12 a 26 semanas, $n=60$), porém quanto maior o número de partos, maior foi a taxa de penetração da cérvix ($n=197$, $p<0,05$). Não foi identificada influência do tratamento hormonal (sincronização) sobre a taxa a penetração cervical ($n=101$), contudo durante a estação reprodutiva a penetração da cérvix foi facilitada. Donavan et al. (2004) também não encontraram diferenças na taxa de gestação entre as ovelhas inseminadas, por via transcervical, no estro natural ou sincronizado, utilizando o sêmen congelado. Diferentemente, outro estudo relatou fertilidade reduzida em ovelhas inseminadas em estros sincronizados (ANDERSEN et al., 1973),

atribuindo estes efeitos negativos à redução do transporte espermático através da cérvix (ARMSTRONG, EVANS, 1984).

Estudos têm demonstrado que a dificuldade e o maior tempo de manipulação cervical, no qual é empregada força excessiva pode exercer efeito negativo sobre os resultados da transferência de embriões (WULSTER-RADCLIFFE et al., 1999). Além disso, o estresse sofrido pelo tecido cervical pode induzir a produção de compostos espermicidas (HAWK, 1983).

Na tentativa de facilitar a IA transcervical estudos têm sugerido o uso de dilatadores cervicais durante inseminação. A ocitocina exógena induz ao relaxamento cervical na ovelha (KHALIFA et al., 1992) e estimula a liberação de prostaglandina E₂ (PGE₂) em bovinos durante o estro, pelo aumento local da ciclo-oxigenase-2 (COX-2) (SHEMESH et al., 1997). A prostaglandina sintética também é ativa na cérvix e a PGE₂ é secretada na mucosa cervical, durante a onda pré-ovulatória de LH (hormônio luteinizante, FUCHS et al., 2002). Durante o estro a cérvix da ovelha aumenta a expressão de RNAm (ácido ribonucléico mensageiro) da COX-2 (KERSHAW et al., 2004) que sugere um aumento das concentrações de PGE₂ cervical, promovendo o seu relaxamento e remodelamento (STYS et al., 1981; LEDGER et al., 1983).

Além da ocitocina, análogos da PGE₂, como o misoprostol, têm sido utilizados como dilatadores cervicais. Em mulheres, o misoprostol é utilizado para o relaxamento cervical durante o parto e a inseminação artificial (McKELVEY, 1999; GOLDBERG et al., 2001).

A prostaglandina sintética é ativa na cérvix e PGE₂ é secretada na mucosa cervical durante a onda de LH (FUCHS et al., 2002). Leethongdee et al. (2007) avaliaram a penetrabilidade cervical, em ovelhas tratadas com misoprostol (1 mg em 0,5 ml de gelatina 30%) intracervical, FSH (hormônio folículo estimulante, 2 mg em 0,5 ml de goma arábica) ou associação dos dois, durante o período peri-ovulatório. No grupo controle o relaxamento cervical máximo ocorreu 72 horas após a retirada da esponja contendo progesterona. As ovelhas tratadas com FSH apresentaram um período mais longo (54 a 60 h após a retirada da esponja) de penetração intrauterina, comparada ao misoprostol ou em combinação (54 horas após a retirada da esponja). A abertura cervical apresentou dilatação mais pronunciada e maior facilidade na

passagem do cateter através da cérvix nos grupos tratados, quando comparados ao controle.

Owiny e Fitzpatrick (1990) estudaram a aplicação intravaginal de PGE₂ em gel e encontraram um aumento de quatro vezes na extensibilidade (sinuosidade e distensões/minuto) e uma redução de duas vezes no estiramento (estresse/unidade de estiramento). Concluíram que a PGE₂ promoveu relaxamento cervical com ausência de atividade uterina ou alterações nas concentrações de progesterona plasmática de ovelhas.

Wing et al. (1999) compararam a administração de misoprostol, análogo da PGE₂, por via oral e intravaginal em mulheres. Verificaram que a administração oral é menos efetiva que a vaginal para induzir o relaxamento cervical. Além disso, Chang e Chang (1997) verificaram que o misoprostol é um agente seguro e efetivo para a indução de relaxamento cervical em mulheres e foi mais eficiente que o dinoprost, uma PGF_{2α}.

Barbas et al. (2003) utilizaram o misoprostol associado a terbutalina, outro agente dilatador cervical, para promover dilatação cervical para a IA transcervical, com sêmen fresco, em ovelhas. Não encontraram diferenças significativas entre o grupo controle e tratado e sugeriram que o tempo entre a aplicação dos dilatadores cervicais (15 minutos) e a IA foi insuficiente para promover o relaxamento da cérvix.

A terbutalina é um agonista adrenérgico que estimula, predominantemente, os receptores β-2, produzindo relaxamento do músculo liso bronquial, inibição da liberação de espasmógenos endógenos, inibição do edema causado por mediadores endógenos e aumento do movimento mucociliar (BRICANYL®). Além disso, apresenta ação sobre a musculatura lisa do útero, causando relaxamento; em consequência desta ação tem sido indicado para o tratamento de partos prematuros em mulheres (BRICANYL®) e dismenorréia (BULLETTI et al., 2001). Em ovelhas, a terbutalina, inicialmente, causa diminuição da contratilidade e atividade elétrica do útero, promovendo relaxamento (REID et al., 1992).

As taxas de fertilidade se devem também a dose inseminante, a qualidade dos espermatozóides, ao estro natural ou sincronizado, a situação reprodutiva, a idade, a raça e condição corporal dos reprodutores e matrizes, ao intervalo entre o último parto e a inseminação, além do local de deposição

do sêmen (LÓPEZ-BREA, 1996). Ademais, os espermatozóides após a descongelação, quando comparado aos refrigerados ou frescos, apresentaram reduzida fertilidade (MAXWELL, WATSON, 1996). A baixa fertilidade de ovelhas obtida na IA transcervical com sêmen congelado são também atribuídas aos danos causados ao espermatozóide durante o processo de criopreservação, resultando em diminuição do deslocamento através da cérvix, na sua viabilidade e capacidade de fertilização reduzida e índices elevados de mortalidade embrionária (SALAMON, MAXWELL, 1995, MILCZEWSKI et al., 2000).

O principal problema é baixa fertilidade do sêmen congelado. Verberckmoes et al. (2001) utilizando o sêmen refrigerado, estudou a fertilidade de ovelhas, após a inseminação cervical, em relação a dose inseminante e não encontrou diferenças estatísticas quando utilizou 250×10^6 (taxa de prenhez 65%) e 500×10^6 (taxa de prenhez 69%). Contudo Naqvi et al. (1998) encontraram baixas taxas de parição, utilizando o sêmen congelado, sendo maiores quando a profundidade da pipeta de inseminação foi maior. Neste estudo, a taxa de parição foi zero, quando o sêmen foi depositado no óstio cervical externo; 28,5% na metade do comprimento cervical (IA cervical); e 27,2% na IA transcervical.

Numerosas tentativas têm sido realizadas para superar a barreira cervical em ovelhas e alcançar o útero, com o objetivo de aumentar as taxas de parição após a inseminação. O acesso mais praticado para IA intrauterina em ovelhas é o laparoscópico (KILLEEN, CAFFERY, 1982), sendo recomendado, mundialmente, ao se utilizar o sêmen congelado (TRALDI, 2006). Com este acesso a taxa de concepção tem sido aceitável, tanto com sêmen fresco, como congelado (KILLEEN; CAFFERY, 1982; ARMSTRONG, EVANS, 1984; MAXWELL et al. 1984a; 1984b; MAXWELL, HEWITT, 1986). No Brasil, a inseminação artificial por laparoscopia foi relatada pela primeira vez por Bonifacino-Artola et al. (1987).

Segundo Fukui e Roberts (1978) não houve diferença na fertilidade entre sêmen fresco e congelado quando utilizado na inseminação por laparoscopia. A cirurgia laparoscópica além de permitir o uso de uma dose inseminante menor, quando comparado a inseminação cervical, otimiza a utilização do doador do sêmen.

Porém, a aplicação da IA laparoscópica em rebanhos comerciais é limitada, devido ao alto custo, a falta de preservação do bem-estar animal e a necessidade de técnicos treinados (MOSES et al., 1997; MILCZEWSKI et al., 2000, KERSHAW et al., 2005). Além disso, na técnica de IA por laparoscopia a ovelha é posicionada em decúbito dorsal supino (posição de Trendelemburg), com ângulo de 60°, numa mesa própria para o procedimento. Este posicionamento pode aumentar as chances de aspiração do conteúdo de regurgitação ruminal, podendo até mesmo ser fatal (ALLEN; BORKOWSKI, 1999). Além disso, requer o uso de uma mesa específica e gera desconforto, contrapondo as diretrizes de bem-estar animal. Ademais, o técnico deve se adaptar a mesa, o que em algumas ocasiões, pode levar ao desconforto do cirurgião e influenciar, no tempo cirúrgico. Outra consequência a ser considerada é o acentuado garroteamento dos membros anteriores, causado pelo peso do animal, devido à inclinação.

Cirurgias laparoscópicas utilizando a posição de Trendelemburg e pneumoperitônio reduzem os volumes pulmonares podendo gerar hipóxia (LÜTKE, 2001) e diminuir o débito cardíaco em torno de 25% (DENNIS, 2006). Ademais, este posicionamento aumenta a pressão intra-torácica, pressão venosa central, pressão capilar pulmonar e a pressão arterial média, aumentando, então, o trabalho cardíaco (CHANG, REGE, 2004).

As trocas gasosas e mecanismos respiratórios são afetados pela duração do pneumoperitônio e posição do paciente. A deterioração da função respiratória é reduzida quando o paciente está em posição de Trendelenburg (SALIHOGU et al., 2002), ou seja, ocorre uma hipoventilação induzida pela compressão do diafragma, o que numa anestesia geral pode levar a hipercapnia (aumento de CO₂ no sangue), acidose e arritmia cardíaca, especialmente, quando o paciente é mantido com halotano (CUNNINGHAM; BRULL, 1993). Segundo Campos e Roll (2003) tais alterações podem ser controladas pela ventilação mecânica sob pressão.

A manutenção do declive da cabeça não exacerba o aumento da pressão na passagem de ar (KELMAN et al., 1972). Contudo, existe uma diminuição na capacidade residual funcional e um aumento no espaço morto alveolar, levando a um descompasso na ventilação-perfusão (PURI; SINGH, 1992).

Outras conseqüências desta posição têm sido descrita em humanos. A hemorragia na retina causada pela associação de hipóxia, hipercapnia e dilatação venosa na retina é agravada pela posição de Trendelenburg (STOW, 1986), além do aumento da pressão ocular (GARTNER e BECK, 1965; SHARMA et al., 1997).

2 OBJETIVOS

O principal objetivo deste estudo foi estudar quatro técnicas de inseminação artificial em ovelhas, no sentido de determinar uma técnica que pudesse ter aplicação comercial, com mínimos prejuízos a saúde e bem-estar animal. Portanto objetivou-se, avaliar:

- ★ O comportamento animal durante e após os procedimentos de inseminação;
- ★ A taxa de prenhez nos grupos estudados;
- ★ A viabilidade da técnica de inseminação laparoscópica com o animal em decúbito lateral.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS E MANEJO

O experimento foi realizado durante os meses de agosto a novembro. Foram utilizadas 43 ovelhas da raça Morada Nova provenientes da propriedade Garça Branca, localizada na zona rural do município de Itirapuã (latitude -20°, longitude -47° e altitude 860 m), estado de São Paulo, a 30 Km da cidade de Franca. As fêmeas foram divididas em quatro grupos: G1 – IA vaginal (n=11); G2 – IA vaginal com aplicação de misoprostol + sulfato de terbutalina (n=11); G3 – IA cervical (n=10); e G4 – IA laparoscópica (n=11).

Os animais foram selecionados de acordo com a condição corporal (escore 4), idade (entre 2 e 4 anos), estado reprodutivo (parto recente). Na propriedade foi aplicado o manejo extensivo, sendo a dieta baseada em silagem de milho alternando com períodos de pastoreio (*Brachiaria decumbens* e *Coast cross*) e água *ad libitum*.

As fêmeas selecionadas foram separadas em um único lote. Anteriormente ao experimento, todas as ovelhas foram avaliadas pelo exame ultrassonográfico (transretal e transabdominal – Anser Vet® 485, Pie Medical) quanto à possibilidade de gestação precoce. Os exames foram realizados em dois momentos, com intervalos de 30 dias.

3.2 SINCRONIZAÇÃO DO CIO

Os cios foram sincronizados utilizando-se pressários intravaginais contendo progestágeno (Eazi - Breed CIDR®, 0,33 g de progesterona/dispositivo, Laboratórios Pfizer Ltda., São Paulo, SP, Brasil), implantados na vagina durante 12 dias, seguido pela aplicação I.M de 500 UI de eCG (Gonadotrofina coriônica equina - Folligon® 1.000 UI/5,0 mL, I.M,

Intervet/Schering Plough Animal Health, São Paulo, SP, Brasil) no dia da retirada do dispositivo intravaginal. De 54 a 56/h após a aplicação do eCG os animais foram submetidos a inseminação artificial (I.A).

Os pressários foram embebidos numa solução de cloridrato de oxitetraciclina e hidrocortisona (Terra-Cortril®, Laboratórios Pfizer Ltda., São Paulo, SP, Brasil) a fim de prevenir infecções secundárias. Cada pressário foi utilizado para uma única aplicação.

3.3 CONGELAÇÃO E DESCONGELAÇÃO DO SÊMEN

O sêmen foi colhido de um único carneiro, da raça Dorper, com três anos de idade, após treinamento e repouso sexual de 60 dias, mantido sob a mesma dieta das ovelhas. Anterior ao experimento foram realizadas oito colheitas, nas quais a qualidade espermática foi melhorando de acordo com o condicionamento do macho. Utilizou-se a vagina artificial ovina para a colheita do sêmen (Figura 1), aquecida a 40°C, com tubo de vidro acoplado e recoberto por uma espuma.

Para o estudo foram utilizados cinco ejaculados (concentração total média de $3,1 \times 10^6$ espermatozóides) para a criopreservação. Anteriormente à congelação, o sêmen foi avaliado quanto ao volume (ml), turbilhonamento (escore de 0 a 4), motilidade (0 a 100%), vigor (escore de 0 a 5) e morfologia espermática.

Foi feita uma diluição única do sêmen em meio Botu-Bov® (Biotech, Botucatu, SP, Brasil) numa concentração de 300×10^6 de espermatozóides móveis/mL. O sêmen foi então envasado em palhetas francesas de 0,5 ml vedadas com álcool polivinílico e mantido sob refrigeração por quatro horas. Após a refrigeração as palhetas foram acondicionadas em um suporte metálico a 6 cm da coluna de nitrogênio líquido, em uma caixa de isopor, durante 20 minutos. As palhetas foram então imersas no nitrogênio líquido e armazenadas em botijão criogênico. Anterior a IA, três palhetas foram avaliadas quanto à motilidade e vigor espermático. A descongelação do sêmen foi realizada antes da IA, em banho-maria a 37°C, durante 30 segundos.



Figura 1: Utilização da vagina artificial para a colheita do sêmen.

3.4 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Em todos os tratamentos (IA vaginal, IA vaginal com dilatadores, IA cervical e IA laparoscópica) a dose inseminante foi de 300×10^6 espermatozóides (duas palhetas).

3.4.1 VAGINAL

As ovelhas foram contidas com os membros posteriores elevados; o lúmen vaginal foi exposto com o auxílio de um espéculo de inox lubrificado e o sêmen foi depositado no fundo vaginal com uma seringa. Evitou-se o contato do sêmen com o êmbolo da seringa, deixando-se uma bolha de ar de aproximadamente 2 ml.

3.4.2 VAGINAL COM DILATADORES CERVICAIS

Foram utilizados dois tipos de dilatadores cervicais (misoprostol e sulfato de terbutalina), depositados no fundo vaginal, próximo a abertura cervical externa, com o auxílio de uma seringa, segundo Barbas et al. (2001). O misoprostol (Prostokos, Hebron® Farmacêutica, Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação Tecnológica Ltda., Brasil) foi administrado na dose de 400 µg, diluindo-se os comprimidos em 2,5 ml em água destilada. O sulfato de terbutalina (Medicamento genérico, Medley S/A Indústria Farmacêutica, Brasil) foi utilizado na concentração de 25 mg, diluído em água destilada.

O tratamento foi realizado 54 horas após a remoção do dispositivo intravaginal de progesterona e aplicação do eCG. As fêmeas foram contidas e posicionadas em estação com os membros posteriores elevados. A associação dos dilatadores cervicais foi depositada no fundo vaginal e a fêmea foi mantida por 5 minutos nesta posição e então liberada.

A IA foi realizada 60 minutos após a aplicação dos dilatadores, ou seja, 55 horas após a remoção do pressário intravaginal de progesterona e aplicação do eCG, utilizando o mesmo método descrito anteriormente.

3.4.3 CERVICAL

As ovelhas foram contidas em estação; o lúmen vaginal foi visualizado com o auxílio de um espéculo de inox lubrificado e o sêmen foi depositado na região caudal da cérvix, utilizando-se um cateter rígido de inox (cateter norueguês) de inseminação artificial de cães, a qual contém a porção final arredondada (figura 2). Uma seringa contendo sêmen foi acoplada na porção posterior da sonda para desta forma realizar a inseminação artificial. Da mesma forma que na inseminação vaginal foi evitado o contato do sêmen com a extremidade de látex do êmbolo da seringa.



Figura 2 : Cateter norueguês para inseminação artificial de cadelas.

3.4.4 LAPAROSCÓPICA

A IA laparoscópica foi realizada em ovelhas, previamente, submetidas a um jejum completo de 24 horas.

As ovelhas foram tranqüilizadas com cloridrato de xilazina 10% (Sedazine®, Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, SP, Brasil), na dose de 0,075 mg/kg, IM. A inseminação foi realizada, no máximo, 30 minutos após a tranquilização.

Nestes animais utilizou-se o acesso ventrolateral. As fêmeas foram posicionadas em decúbito lateral esquerdo, com o membro posterior direito elevado e fixado a uma mesa de madeira, construída para este fim (Figura 3). Posteriormente, foi realizada a tricotomia da região ventrolateral,

anti-sepsia e anestesia local com, aproximadamente, 10 ml de cloridrato de lidocaína a 2% (Xylestesin® sem vasodilatador, Cristália, Itapira, SP, Brasil), infiltrando-a em dois locais diferentes, nos quais foram introduzidos os trocartes (Figura 4).



Figura 3: Posicionamento do animal em decúbito lateral para a realização da I.A laparoscópica pelo acesso lateral direito, na mesa de madeira (seta larga branca).

Primeiramente, foi realizada uma incisão de 1 cm (com os planos teciduais separados por divulsão), aproximadamente 12 cm, lateral à linha média, do lado direito do animal e aproximadamente 8 cm, cranialmente, ao teto direito acompanhando o sentido do anel inguinal (Figura 4). Posteriormente, foi introduzido um trocar piramidal e bainha de 5 mm com diafragma e válvula (Edlo S/A Produtos Médicos, Canoas - RS). Quando a bainha foi posicionada dentro da cavidade abdominal, o trocar foi retirado e uma mangueira para insuflação do CO₂, na velocidade de 1 L/minuto, foi conectada a válvula da bainha, acionada e mantida no local, mantendo-se pressão máxima de 12 mmHg.

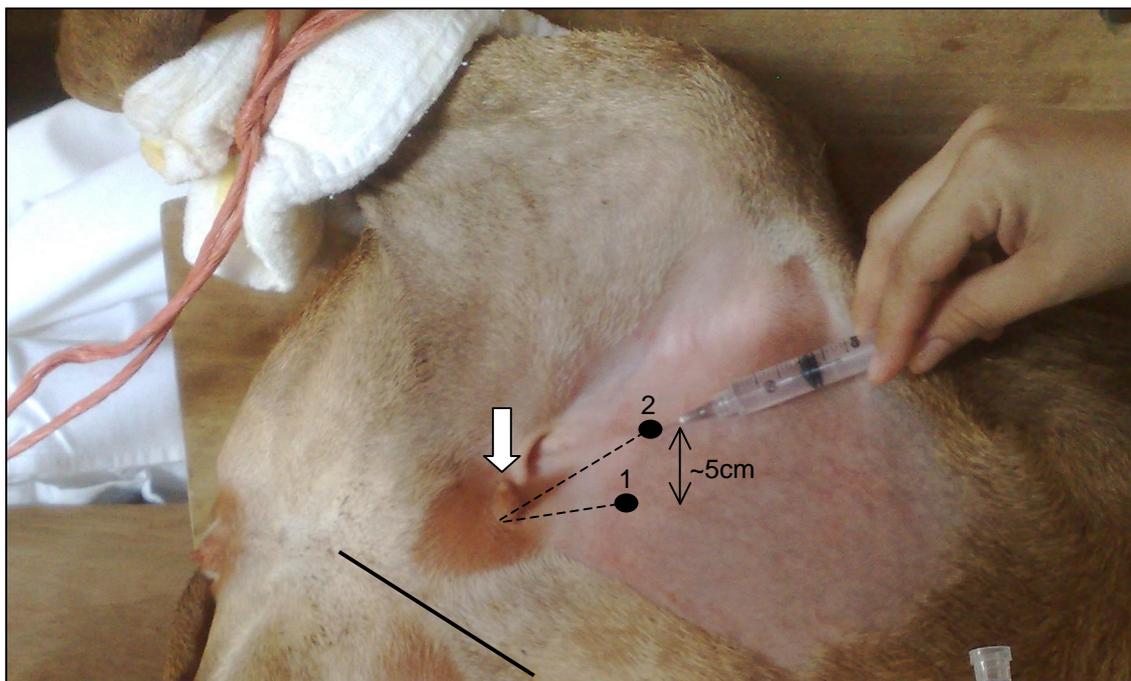


Figura 4: Local de introdução do primeiro (1) e segundo (2) trocarte na parede abdominal direita para I.A laparoscópica pelo acesso ventrolateral, sendo a distância entre os pontos de aproximadamente 5 cm. Seta branca indica o teto, linha pontilhada a distância e a linha contínua representa a linha média.

Na seqüência, um endoscópio rígido de 3,8 mm de diâmetro e 29 cm de comprimento de trabalho, 30° de angulação, foi introduzido na cavidade abdominal, pelo primeiro portal. A segunda incisão de 1 cm, abrangendo pele, subcutâneo, fáscia muscular e musculatura, foi realizada, aproximadamente, 5 cm abaixo da primeira (Figura 5). Por visualização direta o laparoscópio foi posicionado elegendo-se o local do segundo acesso, evitando-se a lesão de órgãos vitais e vasos sanguíneos, de modo que, ao perfurar o peritônio com o trocarte, o cirurgião pudesse observar no vídeo.

A segunda bainha foi introduzida na cavidade abdominal, finalizando o segundo portal (Figura 5). No primeiro portal foi mantido o laparoscópio e no segundo foi introduzida uma pinça atraumática de apreensão de 5 mm (Edlo S/A Produtos Médicos, Canoas – RS). Esta pinça foi utilizada para manipular o útero, tracionando os dois cornos uterinos de tal maneira que

ambos ficassem adequadamente posicionados para a IA (os dois cornos voltados para região lateral direita – Figura 6). Neste momento uma palheta de sêmen foi descongelada, cortando-se o lado o qual havia sido vedado com álcool polivílico, sendo introduzida no aplicador de sêmen, adaptado à uma agulha “vacutainer” 25x7 (Figuras 7). O mesmo procedimento foi realizado no corno contralateral, sendo utilizado 150×10^6 espermatozóides/corno uterino.

Após a IA dos dois cornos, as bainhas dos trocartes foram retiradas (Figura 8) e as incisões suturadas com 1 ponto tipo Wolff, com fio náilon 0 (Brasuture, São Sebastião da Grama - SP).

Foi aplicado nas ovelhas um repelente (Unguento Pearson, Pearson Saúde Animal, São Paulo - SP) ao redor das incisões e antibioticoterapia (Penicilina G benzatina – três aplicações, IM, a cada 48 horas), sulfato de morfina (Dimorf 10 mg/ml, IM, Cristália, Itapira, SP, Brasil) na dose de 0,1 mg/kg e cetoprofeno (Ketofen® 10%, IM, Merial, Campinas, SP, Brasil).



Figura 5: Posicionamento dos dois trocartes, nos quais foram posicionadas a óptica e a pinça de manipulação uterina ou aplicador de sêmen.

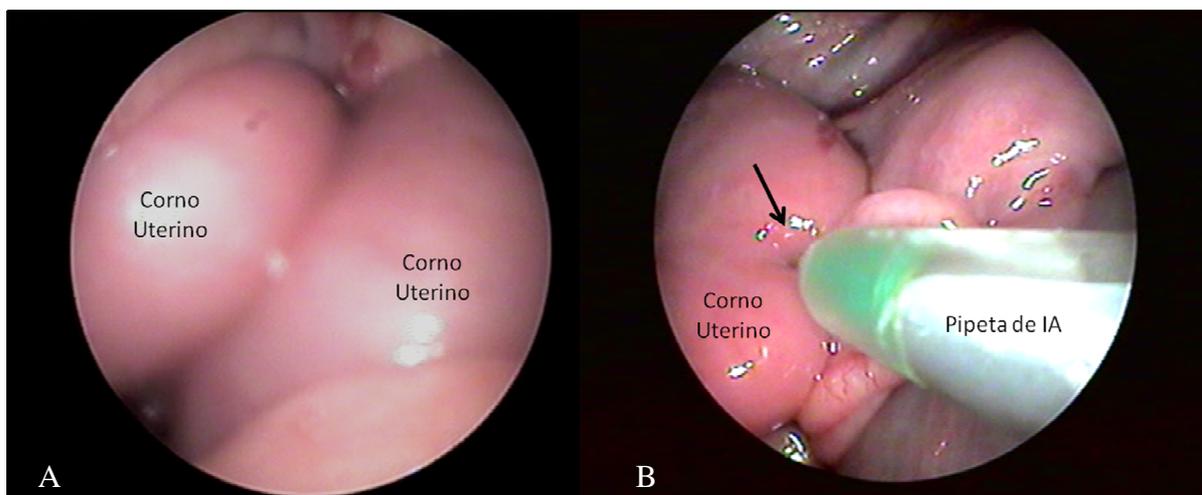


Figura 6: Inseminação artificial por videolaparoscopia. Posicionamento do útero na cavidade abdominal para inseminação artificial (A); Pipeta de inseminação artificial acoplada a uma agulha, inserida no corno uterino, local da seta (B).

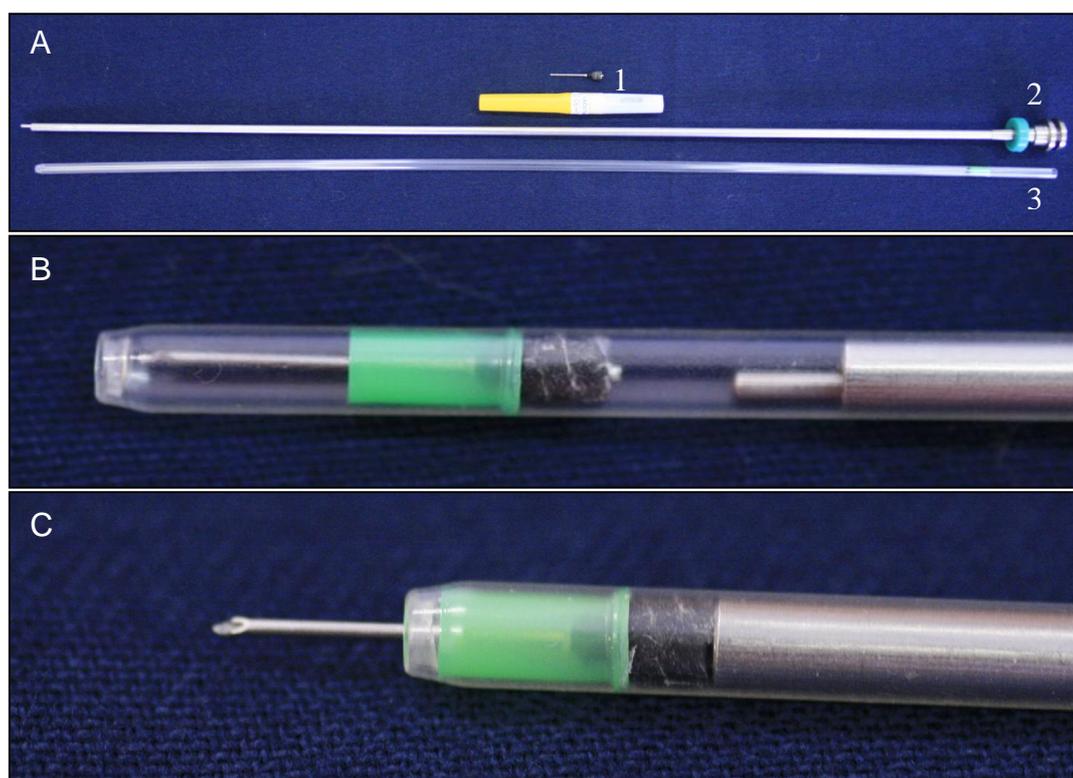


Figura 7: Aplicador de sêmen com bainha e agulha (adaptada do vacutainer). 1. Agulha retirada do vacutainer; 2. Aplicador de sêmen bovino; 3. Bainha que reveste o aplicador (utilizada para bovinos), posicionada atrás do limitador da

bainha (a) Agulha protegida pelo limitador da bainha (b). Aplicador pronto para inseminação evitando a perda da agulha para dentro da cavidade (c).



Figura 8: Lesões de acesso dos portais, considerando as referências anatômicas, aproximadamente 12 cm, lateral à linha média do lado direito do animal e aproximadamente 8 cm cranialmente ao teto direito, acompanhando o sentido do anel inguinal.

3.5 DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

O diagnóstico de gestação foi realizado 30 e 60 dias após a inseminação artificial, por exame ultrassonográfico (Anser Vet® 485, Pie Medical), por via transretal e transabdominal, respectivamente.

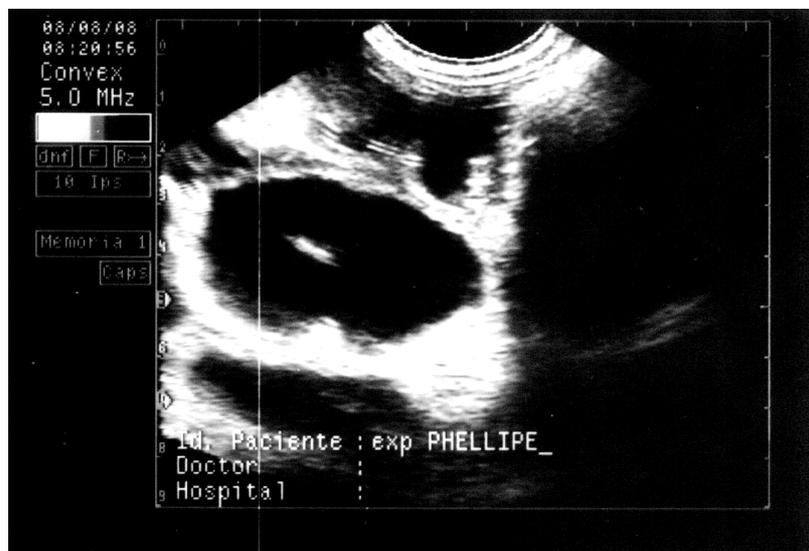


Figura 9: Ultrassonografia do útero de uma ovelha gestante, após 40 dias da inseminação artificial por videolaparoscopia.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos resultados foi descritiva, na qual se usou observação dos fatos e porcentagem.

4 RESULTADOS

4.1 ANIMAIS E MANEJO

Não houve alteração no manejo do rebanho durante o experimento. Todas as ovelhas selecionadas foram incluídas no estudo, e a condição corporal das fêmeas se manteve estável durante todo o período. A temperatura média e índice pluviométrico (Tabela 1) se encontraram dentro da expectativa para a estação.

Tabela 1: Temperatura média máxima e mínima e índice pluviométrico entre os meses de agosto e novembro de 2008, na região de Franca, SP. (Fonte: CIIAGRO – Centro de Informações Agrometeorológicas – www.ciiagro.sp.gov.br).

Mês	Temperatura Média (°C)		Índice Pluviométrico (mm)
	Máxima	Mínima	
Agosto	28,7	14,8	3,7
Setembro	30,3	13,5	1,6
Outubro	31,1	17,8	13,3
Novembro	29,5	17,1	16,9

4.2 SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL

Todas as fêmeas utilizadas no experimento apresentavam características nítidas de cio: hiperemia da mucosa vaginal, edema discreto da vulva, corrimento vaginal mucoso a creme claro, permitindo a monta.

Não foram observadas alterações evidentes quanto ao uso do pressário ou aplicação do eCG, tais como infecções do trato genital feminino.

4.3 CONGELAÇÃO DO SÊMEN

O sêmen fresco apresentou volume entre 0,5 e 1,5 ml, turbilhonamento entre 3 e 4, motilidade média de 80%, vigor espermático entre 3 e 4 e porcentagem de espermatozóides morfolologicamente normais entre 70 e 80%. A concentração espermática média

Após a congelação, houve redução dos parâmetros seminais, sendo a motilidade em torno de 50% e vigor 3.

4.4 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Nos animais que foram realizadas a IA cervical não foi utilizada a pinça tecidual de Allis, com isso não houve lesão da mucosa vaginal, nem desconforto no momento da I.A.

Nas ovelhas que foram submetidas a IA vaginal, sem dilatadores não houve nenhum tipo de complicação e todo o sêmen que foi depositado no fundo da vagina ficou no local, não sendo expelido posteriormente. Já nas ovelhas que foram feitas inseminações vaginais com dilatadores, grande parte do sêmen foi expelido minutos após a IA.

Na inseminação por laparoscopia o tempo cirúrgico foi de, aproximadamente, 15 minutos por animal, contados desde o momento da aplicação da anestesia local até a sutura da pele e retirada do animal da mesa.

Em duas ovelhas, as quais não foram submetidas ao jejum hídrico e alimentar, a incisão para a introdução da bainha do trocarte, acidentalmente lesionou a parede ruminal, porém sem extravasamento do conteúdo para dentro da cavidade abdominal. Estas ovelhas foram retiradas do experimento. Nenhum animal submetido ao jejum pré-cirúrgico apresentou qualquer tipo de complicação trans ou pós-cirúrgica, incluindo regurgitação, desconforto abdominal ou deiscência da sutura.

Os animais mantiveram-se contidos durante o procedimento cirúrgico e não foi necessária a reaplicação de anestésicos.

Quanto à taxa de prenhez, confirmada pelo ultra-som (Figura 11), foi semelhante nas duas técnicas (Tabela 2).

Tabela 2: Comparação da taxa de prenhez da técnica convencional com a nova técnica de inseminação laparoscópica.

Técnica	Nº de Animais	Ovelhas Gestantes	% Prenhez
Vaginal	11	1	10%
Vaginal + Dilatadores	11	1	10%
Cervical	10	0	-
Laparoscópica	11	6	54%

5 DISCUSSÃO

O ganho genético tem tido um significativo impacto no sistema produtivo de ovinos e inseminação artificial com sêmen fresco ou congelado tem importante função neste contexto. O melhoramento genético contribui para um maior uso dos melhores machos, aumenta a pressão da seleção e taxa de resposta; machos jovens podem ser usados com maior freqüência, resultando num avanço genética maior; carneiros geneticamente superiores podem ser identificados mais facilmente pelos testes de progênie; e a inseminação artificial reduz os riscos de infecção do trato reprodutor, quando comparada ao acasalamento natural. Além disso, a IA está associada a certos benefícios a saúde animal, pois transporta-se o sêmen, prevenindo-se o deslocamento do macho. Entretanto o uso da IA nas ovelhas não tem sido, amplamente, adotado, devido a baixa fertilidade da IA vaginal ou cervical, quando se usa o sêmen congelado.

A cérvix da ovelha contém várias pregas e anéis, sendo a maior parte desalinhada. Esta morfologia contribui para o estreitamento da porção caudal da cérvix (HALBERT et al., 1990c). Devido a esta especial morfologia a cirurgia laparoscópica é a principal técnica comercial para a inseminação em ovelhas (KERSHAW et al., 2005). Nesta técnica o sêmen é colocado diretamente nos cornos uterinos e os resultados são superiores a inseminação vaginal ou cervical (HALBERT et al., 1990c). Embora os resultados sejam satisfatórios, o procedimento é difícil, com custos relativamente elevados. Repetidas inseminações também interferem com o bem-estar animal (CANDAPPA et al., 2009).

Tanto na técnica vaginal sem dilatadores quanto na técnica vaginal com dilatadores a ovelha ficou em uma posição confortável, não sendo utilizada uma pinça cirúrgica para o tracionamento da cérvix, evitando-se desconforto no momento da inseminação, mas o índice de prenhez foi muito baixo (10%) inviabilizando a sua aplicação comercial. Segundo Verberckmoes

et al. (2001) a dose inseminante deve ficar entre 100 a 600×10^6 espermatozoides de sêmen fresco. Com sêmen refrigerado, Barbas et al. (2001) sugeriram 400 a 600 milhões de espermatozoides ou dupla inseminação para que taxas aceitáveis de gestação sejam obtidas. Neste estudo, a dose inseminante foi de 300×10^6 espermatozoides, o que poderia ser uma das causas dos resultados insatisfatórios. Além disso, o sêmen foi congelado e optou-se por esta concentração na tentativa de encontrar bons resultados com uma dose mediana, na qual poderia utilizar um mesmo ejaculado para pelo menos 10 ovelhas.

Na técnica cervical a taxa de prenhez foi mais baixa que nas técnicas anteriores mostrando que a utilização de sêmen congelado nesta técnica inviabiliza o processo de inseminação artificial em tempo fixo. Ghalsasi e Nimbkar (1996), Maxwell e Watson (1996), Naqvi et al (1998) e Yoshida (2000) relataram uma limitação na inseminação artificial em ovinos com sêmen congelado devido à baixa fertilidade com o uso da técnica cervical. Bunch & Ellsworth (1981) e Naqvi et al (2001) atribuíram este fato à complexidade da anatomia cervical da ovelha devido às pregas fibrosas serem dispostas em diferentes planos e posições, dificultando a inseminação. Visser (1974) relatou a dificuldade do transporte espermático pelo genital da ovelha e Gustafsson (1978) citou como sendo esta a principal causa da baixa fertilidade com o uso da inseminação com sêmen congelado.

Gómez-Brunet et al. (2007) encontraram uma taxa de gestação de 59,4% após inseminação artificial cervical, com cio induzido, durante a estação reprodutiva (n = 331) fora da estação reprodutiva (n = 445). Neste estudo, utilizou-se sêmen refrigerado e a dose inseminante foi de 400×10^6 espermatozoides. As inseminações ocorreram entre 55 e 56 horas após a retirada das esponjas de progesterona (30 mg FGA, Intervet – 12 dias) e aplicação de eCG (500 UI, IM). A maioria dos estudos com IA cervical ou vaginal utilizaram o sêmen fresco diluído ou não, ou sêmen refrigerado. No presente estudo, utilizando sêmen congelado, apesar da boa motilidade e vigor espermático após a descongelação do sêmen, isto não refletiu na taxa de gestação após a IA vaginal ou cervical.

Muitos fatores podem influenciar na taxa de fertilidade. No cio não induzido, a fertilidade de fêmeas após acasalamento natural é de 83%. Na

inseminação artificial, com a deposição cervical (5 mm de profundidade) do sêmen fresco (não diluído), este valor é de aproximadamente 70%. Estas taxas são semelhantes em fêmeas sincronizadas, inseminadas por via laparoscópica com sêmen fresco diluído (72%) ou não (77%) (GHALSASI; NIMBKAR, 1996). Langford et al. (1979) reportaram taxas mais elevadas quando utilizaram o sêmen fresco diluído para a inseminação cervical, encontrando 83% de concepção, enquanto Maxwell et al. (1984a) verificaram 71,7%. Com o sêmen congelado, a taxa de gestação varia de 50 a 70%, dependendo do método de inseminação e a dose inseminante. Halbert et al. (1990b) encontraram uma taxa de gestação de 50 a 68% em ovelhas inseminadas pela via transcervical e 70% pela via laparoscópica. No presente estudo, optou-se pelo uso do sêmen congelado pelas inúmeras vantagens dessa biotécnica na difusão de material genético, e, mesmo pela via laparoscópica, os resultados foram inferiores aos da literatura consultada.

Um dos principais fatores que limita a inseminação em ovelhas com sêmen congelado é a incapacidade do espermatozóide em atravessar a cérvix (LIGHTFOOT; SALAMON, 1970). Diferente do sêmen fresco, o qual demonstram taxas de concepção aceitáveis, a inseminação cervical ou vaginal com sêmen congelado requer a deposição uterina (SALAMON; LIGHTFOOT, 1970; MAXWELL; HEWITT, 1986). Para tanto, o procedimento mais utilizado é a inseminação intrauterina por laparoscopia (KILLEEN; CAFFERY, 1982). Dessa forma a IA laparoscópica é o procedimento que apresenta melhores resultados com o uso do sêmen congelado, e por isto foi utilizada neste estudo como um grupo controle da eficácia da congelação do sêmen.

Uma alternativa à IA laparoscópica é a passagem de uma pipeta até o útero, por via transcervical. Tal procedimento envolve menor custo e não é necessário uma cirurgia e tampouco anestesia (WINDSOR, 1995). Um destes métodos é o *Guelph System*, o qual produz taxas de concepção similares a IA laparoscópica, nas fêmeas as quais o sêmen foi depositado no útero. Isto porque, a taxa de penetração cervical pode variar entre 21 a 82% (HALBERT et al., 1990a; WINDSOR et al., 1994; WINDSOR, 1995). Em todos estes estudos, a cérvix foi retraída com uma pinça cirúrgica, tanto para tracioná-la até a abertura vulvar, assim como para esticá-la, na tentativa de facilitar a passagem da pipeta de inseminação. Porém, em algumas situações a passagem da

pipeta requer alguns minutos o que gera dor devido ao tracionamento da parede vaginal. No presente estudo, optou-se por estudar técnicas que fossem aplicáveis à espécie, com menor desconforto possível e taxa de gestação aceitável. Porém, mesmo utilizando uma pipeta com pequeno diâmetro e ponta arredondada, a passagem da cérvix, sem o tracionamento, não foi possível em nenhuma das ovelhas estudadas. A máxima penetrabilidade da pipeta foi de 1,0 cm.

Provavelmente, a baixa fertilidade observada pela reduzida taxa de gestação do sêmen congelado, quando inseminado por via vaginal pode ser explicada pelos efeitos deletérios da congelação nos espermatozóides (SALAMON; MAXWELL, 1995, MILCZEWSKI et al., 2000). Sabe-se que, a criopreservação reduz o transporte do sêmen através da cérvix e a sincronização do estro acentua esta redução (HAWK; COOPER, 1977). Assim, no presente estudo, a associação da inseminação vaginal ou cervical, o sêmen congelado e o estro sincronizado, contribuíram para a baixa fertilidade.

A manipulação cervical empregando-se força excessiva pode promover a produção de compostos espermicidas (HAWK, 1983; WULSTER-RADCLIFFE et al., 1999), além de provocar dor. No presente, tentou-se manter o bem estar animal e não houve a manipulação excessiva cérvix, contudo encontrou-se baixa fertilidade, como já descrito anteriormente.

Contudo, esperava-se que o uso de dilatadores cervicais pudesse facilitar o transporte do sêmen até o útero, mas a taxa de gestação também foi baixa neste grupo. No estudo de Barbas et al. (2003), utilizando o misoprostol associado a terbutalina para promover dilatação cervical não foram encontradas diferenças significativas entre o grupo controle e tratado. Estes autores sugeriram que o tempo entre a aplicação dos dilatadores cervicais (15 minutos) e a IA foi insuficiente para promover o relaxamento da cérvix. Por estes motivos, no presente estudo, o tempo entre a aplicação dos dilatadores cervicais e a inseminação foi de 60 minutos, o que não modificou a taxa de gestação, quando comparado ao grupo de ovelhas inseminadas pela via vaginal, sem o uso dos dilatadores.

Owiny e Fitzpatrick (1990) descreveram a PGE₂ (misoprostol) como um potente fármaco capaz de promover o relaxamento cervical com ausência de atividade uterina ou alterações nas concentrações de

progesterona plasmática de ovelhas. Já a terbutalina é um agonista adrenérgico que estimula, predominantemente, os receptores β -2, produzindo relaxamento do músculo liso (BRYCANIL®) e em ovelhas causa diminuição da contratilidade e atividade elétrica do útero, promovendo relaxamento (REID et al., 1992). Porém, apenas Barbas et al. (2003) tem descrito seu uso como relaxante cervical nesta espécie. No presente estudo, não foi avaliada a penetrabilidade cervical, porém notou-se o relaxamento acentuado da cérvix, com refluxo do sêmen.

Na inseminação cervical, numa profundidade máxima de 1,0 cm, nenhuma das ovelhas ficou gestante, o que poderia ser atribuída a baixa fertilidade do sêmen congelado, a sua baixa capacidade de transpor todo o canal cervical e pelo restrito número de animais utilizado neste estudo. Estes resultados são próximos aos da inseminação vaginal, na qual apenas uma fêmea tornou-se gestante utilizando-se um número restrito de fêmeas.

Alguns fatores podem interferir na taxa de penetração cervical. Há maior facilidade na passagem da cérvix em ovelhas que pariram mais vezes e durante a estação reprodutiva (estro sincronizado). WINDSOR (1995) Não verificou diferença entre o estro sincronizado e natural; intervalo entre o parto e inseminação; e repetibilidade quanto a penetrabilidade cervical (WINDSOR, 1995). Ghalsasi e Nimbkar (1996) também não encontraram diferenças entre a porcentagem de fêmeas gestantes, em cio sincronizado, durante a estação reprodutiva (77%) ou não (72%). Os mesmo resultados foram relatados por Donovan et al. (2004). Tais resultados podem comprovar que a sincronização do cio das ovelhas, no presente estudo, pode não ter sido a causa da baixa fertilidade.

Perkins et al. (1996) não encontraram diferenças significativas na taxa de gestação, quando realizada a inseminação laparoscópica em apenas um (49,3%) dos cornos uterino, sem observação do ovário ou nos dois (50,7%). No presente estudo, optou em utilizar a inseminação nos dois cornos, mantendo a mesma dose inseminante para todos os grupos estudados. Segundo o estudo acima a inseminação em apenas um dos cornos reduziria a manipulação das vísceras e o tempo cirúrgico, porém quando o útero é localizado e posicionado o tempo gasto para a inseminação é mínimo e a manipulação não é grande; haja visto que em outros trabalhos é descrita maior

taxa de parição quando as ovelhas são inseminadas nos dois cornos, mesmo recebendo a metade da dose de sêmen, quando comparada às ovelhas inseminadas apenas no corno ipsilateral ao ovário com folículo preovulatório (MAXWELL, 1986).

Anel et al. (2005) realizaram um grande estudo envolvendo 22.758 ovelhas e 44.448 inseminações, das quais 17.631 foram por via vaginal, com sêmen refrigerado e 26.817 por laparoscopia, com sêmen congelado. O cio foi sincronizado com progestágeno e eCG e as inseminações foram realizadas em 55 horas na IA vaginal e entre 54 e 68 horas após a remoção dos pressários, na IA laparoscópica. Para IA vaginal foi utilizado 400×10^6 espermatozóides diluídos e para a IA laparoscópica foi utilizado 25×10^6 espermatozóides, divididos nos dois cornos uterinos. Os dados gerais de fertilidade foram 31,2% para a IA vaginal e 44,89% para a IA laparoscópica. Neste estudo, independente da técnica, os melhores resultados foram verificados durante a estação reprodutiva. A idade das ovelhas também influenciou na fertilidade; a idade ideal, na qual a fertilidade é maior, foi de 1,5 a 4,5 anos. No presente estudo, as ovelhas encontraram-se dentro da faixa etária citada acima; e embora tenha-se usado um número muito inferior aos do estudo de Anel et al. (2005), os resultados de fertilidade foram superiores em relação a IA laparoscópica. No entanto, com relação a IA vaginal, a comparação não é possível, pois estes autores utilizaram sêmen refrigerado, o qual possui maior fertilidade, quando comparado ao congelado (SALAMON; MAXWELL, 1995, MILCZEWSKI et al., 2000).

O acesso mais praticado para IA intrauterina em ovelhas é o laparoscópico (KILLEEN; CAFFERY, 1982), sendo recomendado, mundialmente, ao se utilizar o sêmen congelado (TRALDI, 2006). Com este acesso a taxa de concepção tem sido aceitável, tanto com sêmen fresco, como congelado (ARMSTRONG; EVANS, 1984; KILLEEN; CAFFERY, 1982; MAXWELL et al. 1984b; MAXWELL; HEWITT, 1986). Segundo Fukui e Roberts (1978) não houve diferença na fertilidade entre sêmen fresco e congelado quando utilizados na inseminação por laparoscopia. Na técnica laparoscópica em decúbito lateral a ovelha ficou em uma posição mais confortável, o tempo de cirurgia foi curto e a taxa de prenhez (54%) apresentou-se dentro dos limites aceitáveis.

A laparoscopia ventral requer o posicionamento em decúbito dorsal. Na maioria dos casos de cirurgia do abdome caudal, o animal deve ser colocado na posição de Trendelenburg, na qual a cabeça é mantida para baixo e os membros posteriores erguidos. Esta posição faz com que as vísceras se movam cranialmente, devido ao efeito da gravidade. E pode-se observar duas potenciais complicações: primeira, inapropriada pressão das vísceras no diafragma, e segundo, a possibilidade do animal escorregar da mesa. Para evitar as complicações da pressão sobre o diafragma, o anestesiológico deve se capaz de promover uma pressão de ventilação positiva (HENDRICKSON, 2009), porém, sabe-se que nas condições a campo, a ventilação mecânica é algo impossível de ser realizado. No estudo em questão, não foi observado nenhum comprometimento respiratório, mesmo nas ovelhas em que o tempo cirúrgico foi superior a 15 minutos. Deve ser lembrado que a IA laparoscópica, geralmente é um procedimento cirúrgico rápido, o que pode minimizar os riscos do posicionamento. Porém, apenas profissionais experientes são capazes de realizar a cirurgia nesse período.

Embora as complicações da laparoscopia sejam raras, injúrias em estruturas abdominais com trocarte e agulha de Veress ocorrem em 38% das laparotomias. Destas injúrias, a agulha de Veress é responsável por 39,8% (BAILEY et al., 1995; LEVIE, 2009). Porém, a experiência reduz significativamente as complicações cirúrgicas (AGACHAN et al., 1996), além do uso da técnica de laparoscopia aberta (CHANG; REGE, 2004), a qual é mais segura quando comparada a técnica fechada (BONJER et al., 1997). Grande parte das complicações da laparoscopia ocorrem durante o acesso à cavidade abdominal, sem visualização direta, principalmente na introdução da agulha de Veress ou do primeiro trocarte. A incidência de lesões nas vísceras é de cerca de 0,05 a 0,2% (ROLL; CAMPOS, 1994). Em humanos, muitas lesões podem ser evitadas com esvaziamento prévio do estômago e bexiga, assim como o posicionamento do paciente em Trendelenburg, durante a introdução da agulha na cavidade abdominal, direcionando-a para a pelve (CAMPOS e ROLL, 2003).

No experimento em questão, a técnica de acesso à cavidade na laparoscopia foi aberta, sem a utilização da agulha de Veress. Nesta técnica não foram observadas nenhuma complicação, com exceção de um dos animais, no qual houve uma pequena lesão na parede do rúmen, a qual foi

imediatamente suturada. Esta fêmea foi acompanhada durante 15 dias para observação de possíveis complicações, as quais não ocorreram. O mesmo ocorreu em duas fêmeas de um grupo de animais, o qual foi descartado do estudo. Neste grupo, o tratador esqueceu-se do jejum, previamente à cirurgia. Os fatos fazem com que seja importante destacar, que para a técnica de IA laparoscópica em decúbito lateral, sem a posição de Trendelenburg, é imprescindível o jejum de 24 horas, anterior à cirurgia.

Segundo Donovan et al. (2004) a raça da ovelha pode ser um ponto determinante no potencial de exploração da IA cervical com sêmen congelado, pois a taxa de gestação, nestes programas podem ser influenciadas pela raça. É importante ressaltar que independente da técnica utilizada para a inseminação artificial, esta é a primeira descrição da inseminação artificial em ovelhas da raça Morada Nova. Se há interferência da raça na fertilidade, ainda é necessário ser investigado em estudos utilizando maior número de fêmeas.

No Brasil (região tropical, latitude menor que 25°), as fêmeas ovinas nativas em condição corporal satisfatória, apresentam estro e ovulação ao longo do ano, o que favorece partos em qualquer estação do ano (SIMPLÍCIO, 2008). A raça Morada Nova é considerada nativa, a qual foi descrita pela primeira vez em 1937 (REDE Morada Nova). Ademais, esta raça adapta-se facilmente às condições de produção, com alta taxa de fertilidade, mesmo em condições desfavoráveis (REDE Morada Nova). Por este motivo, é difícil relacionar a baixa fertilidade encontrada no presente estudo com o período do ano e as condições estacionais; pois sendo Morada Nova uma raça nativa, com cios durante todo o ano, o período do presente estudo (final da primavera) não interferiria na fertilidade das ovelhas.

Devido ao comportamento poliestrual contínuo desta raça em clima tropical, segundo a literatura não haveria a necessidade de sincronização do cio utilizando-se o eCG. Somente o uso de progestágenos pode sincronizar o cio nestas ovelhas (THIMONIER et al., 1968). Contudo, segundo Rodrigues et al (2004) o uso de eCG, associado aos progestágenos aumentou a incidência e o número de ovelhas Morada Nova e Santa Inês em cio. No presente estudo, embora não tenha sido o objetivo, observou-se que todas as ovelhas apresentavam claros sinais de cio, após a sincronização.

A raça das ovelhas pode influenciar na fertilidade, em função do período ovulatório. Segundo Karagiannidis et al. (2001), o acasalamento de Chios Chios X Vlachiki, a melhor taxa de concepção foi de 48 a 72h após a retirada do pressário; enquanto que no acasalamento da raça Vlachiki, a melhor taxa de concepção foi melhor entre 48 e 60h. Neste estudo, não é possível nenhum tipo de comparação, por se tratar do único estudo a respeito da IA em ovelhas da raça Morada Nova.

Naqvi et al. (1998) estudaram a IA transcervical em raças nativas de região tropical, em cios naturais. A passagem total da cérvix foi obtida em 44,7% das ovelhas. No presente estudo, uma sonda de IA de cães foi utilizada com a intenção de ultrapassar a barreira cervical. No entanto, nenhuma tração ou força excessiva foi utilizada e em nenhuma das ovelhas estudadas foi obtido sucesso.

Na tentativa de promover o melhoramento genético, com a incorporação de material proveniente de animais de elite é necessária a produção de grande número de animais com mérito superior dentro de um curto período. Porém através das técnicas convencionais de acasalamento isto não seria possível. As biotecnologias da reprodução possibilitam o aceleração do ganho genético e o aumento do potencial de produção em ovinos. Estas tecnologias incluem, entre outras, a inseminação artificial com sêmen congelado. Contudo, há de se pensar na aplicação de técnicas que atendam a estes requisitos, com alta produtividade, mas que preservem o bem-estar animal.

Nas condições do estudo é possível afirmar que a inseminação artificial em ovelhas utilizando sêmen congelado só é viável quando o sêmen é depositado no útero, neste caso, com a técnica de laparoscopia. A inseminação laparoscópica em decúbito lateral deixa a ovelha em uma posição mais confortável, proporciona um menor risco de aspiração do conteúdo gástrico e melhora a condição respiratória, quando comparada à técnica de inseminação laparoscópica utilizada atualmente, que adota a posição de Trendelenburg. Já as técnicas de IA vaginal, vaginal com dilatadores e cervical, não podem ser aplicadas comercialmente.

6 CONCLUSÕES

Nas condições do estudo, concluiu-se que:

- ★ As técnicas de IA vaginal, IA vaginal com dilatadores cervicais e IA cervical, embora diminuam o desconforto e preservam o bem-estar animal, não apresentam índices aceitáveis de prenhez, não podendo ser aplicadas comercialmente; e
- ★ A técnica de laparoscopia com o animal em decúbito lateral é viável e pode ser aplicada comercialmente, utilizando o sêmen congelado.

REFERÊNCIAS

ABUSINEINA, M. E. Effect of pregnancy on the dimensions and weight of the cervix uteri of sheep. **Brazilian Veterinary Journal**, v. 125, p. 21-24, 1969.

AGACHAN, F. et al. Intraoperative laparoscopic complications. Are we getting better? **Diseases of the Colon & Rectum**, v. 39, suppl. 10, p. S14-S19, 1996.

ALLEN, M. J.; BORKOWSKI, G. L. Laboratory Small Ruminant. In: _____ (Ed.). **Veterinary Care**. Florida: CRC Press LLC, 1999. p. 49-98.

ANDERSEN, K.; AAMDAL, J.; FOUIGNER, J. A. Intrauterine and deep cervical insemination with frozen semen in sheep. **Zuchtyg**, v. 8, p. 113-118, 1973. (Abstract)

ANEL, L. et al. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. **Theriogenology**, v. 63, p. 1235-1247, 2005.

ARMSTRONG, D. T.; EVANS, G. Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 71, p. 89-94, 1984.

BAILEY, M. D. et al. **Complications of laparoscopic surgery**. Saint Louis: Quality Medical Publishing Co., 1995. p. 3-58.

BARBAS, J. P. et al. Efeito da aplicação vaginal de agentes dilatadores da cervix durante a fase folicular do ciclo em ovelhas. In: III CONGRESSO IBÉRICO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, Porto. **Resumos...** Porto: Federação Ibérica de Reprodução Animal (FIRA), Sociedade Portuguesa de Reprodução

Animal (SPRA) e Asociación Española de Reproducción Animal (AERA), 2001, p. 299-307.

BARBAS, J. P. et al. Efeito da aplicação vaginal de agentes dilatadores da cérvix (misoprostol e sulfato de terbutalina) sobre os resultados da IA em raças ovinas locais. **Revista Portuguesa de Ciência Veterinária**, v. 98, p. 185-188, 2003.

BICUDO, S. D.; SOUZA, D. B.; TAKADA, L. Possibilidades e limitações da inseminação com sêmen ovino refrigerado e biotécnicas associadas como estratégia de intensificação do manejo reprodutivo. **Archives of Veterinary Science**, v. 5, p. 35-39, 2000.

BONIFACINO-ARTOLA, L. A. et al. Inseminação intrauterina por laparoscopia em ovinos com a utilização de sêmen ovino congelado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 8., 1997, Belo Horizonte. **Resumos...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1987. p. 102.

BONJER, H. J. et al. Open versus closed establishment of pneumoperitonium in laparoscopic surgery. **British Journal of Surgery**, v. 84, n. 5, p. 599-602, 1997.

BRICANYL® (Sulfato de Terbutalina) Turbuhaler: pó para inalação. Responsável técnico Magda C. C. Silveira. Cotia. AstraZeneca do Brasil Ltda, 2009. Bula de remédio. Disponível em: <<http://www.astrazeneca.com.br>>. Acesso em: 06 abril 2007.

BULLETTI, C. et al. Uterine contractility: vaginal administration of the beta-adrenergic agonist, terbutaline. Evidence of direct vagina-to-uterus transport. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 943, p. 163-171, 2001.

BUNCH, T. D.; ELLSWORTH, H. S. Gross anatomy of the ovine cervix. **International Goat and Sheep Research**, v. 4, p. 282-5, 1981.

CANDAPPA, I. B. R. et al. A preliminary study on the suitability of Cervidil® to induce cervical dilation for artificial insemination in ewes. **Research in Veterinary Science**, Article in Press, Corrected Proof - [doi:10.1016/j.rvsc.2009.02.004](https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.02.004)

CAMPOS, F. G. C. M.; ROLL, S. Complicações do Acesso Abdominal e do Pneumoperitônio em Cirurgia Laparoscópica - Causas, Prevenção & Tratamento. **Revista Brasileira de Vídeo-cirurgia**, v. 1, p. 21-28, 2003.

CHANG, C.; REGE, R. V. Minimally invasive surgery. In: TOWNSEND Jr., C. M. et al. (ed.) **Sabiston Textbook of Surgery**. 17 ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 2004.

CHANG, C. H.; CHANG, F. M. Randomized comparison of misoprostol and dinoprostone for preinduction cervical ripening and labor induction. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 96, p. 366-369, 1997.

CUNNINGHAM, A. J.; BRULL, S. J. Laparoscopic cholecystectomy: anesthetic implications. **Anesthesia and Analgesia**, v. 76, n. 5, 1120-1133, 1993.

DENNIS, V. Complications of laparoscopic surgery: preventing accidents. **Perioperative Nursing Clinics**, v. 1, p. 319-328, 2006.

DONOVAN, A. et al. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronized oestrus. **Animal Reproduction Science**, v. 84, p. 359-368, 2004.

DUN, R. The cervix of the ewe. Its importance in artificial insemination of sheep. **Australian Veterinary Journal**, p. 101-103, 1955.

EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. (Ed.). **Salamon's artificial insemination of sheep and goats**. Sydney: Butterworths, 1987.

FUCHS, A. R. et al. Oxytocin induces PGE₂ release from bovine cervical mucosa in vivo. **Prostaglandins other Lipid Mediator**, v. 70, p. 119-129, 2002.

FUKUI, Y.; ROBERTS, E. M. Further studies on non-surgical intrauterine technique for artificial insemination in the ewe. **Theriogenology**, v. 10, n. 5, p. 381-386, 1978.

GARTNER, S.; BECK, W. Ocular tension in the Trendelenburg position. **American Journal of Ophthalmology**, v. 59, p. 1040, 1965.

GHALSASI, P. M.; NIMBKAR, C. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. **Small Ruminant Research**, v. 23, p. 69-73, 1996.

GOLDBERG, A. B.; GREENBERG, M. B.; DARNEY, P. D. Misoprostol and pregnancy. **The New England Journal of Medicine**, v. 344, p. 38-47, 2001.

GÓMEZ-BRUNET, A. et al. Reproductive performance and progesterone secretion in estrus-induced Manchega ewes treated with hCG at time of IA. **Small Ruminant Research**, v. 71, p. 117-122, 2007.

GUSTAFSSON, B. K. Aspects of fertility with frozen thawed ram semen. **Cryobiology**, v. 15, p. 358-61, 1978.

HALBERT, G. W. et al. A technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. **Theriogenology**, v. 33, p. 993-1010, 1990 (a).

HALBERT, G. W. et al. Field evaluation of a technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. **Theriogenology**, v. 33, p. 1231-1243, 1990 (b).

HALBERT, G. W. et al. The structure of the cervical canal of the ewe. **Theriogenology**, v. 33, p. 977-992, 1990 (c).

HAWK, H. W. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p. 2645-2660, 1983.

HAWK, H. W.; COOPER, B. S. Sperm transport into the cervix of the ewe after regulation of estrus with prostaglandin or progestagen. **Journal of Animal Science**, v. 44, p. 638-644, 1977.

HENDRICKSON, D. A. Complications of laparoscopic surgery. **Veterinary Clinic Equine**, v. 24, p. 557-571, 2009.

KAABI, M. et al. Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: a postmortem study. **Theriogenology**, v. 66, p. 1876-1883, 2006.

KARAGIANNIDIS, A. et al. Effect of time artificial insemination on fertility of progestagen and PMSG treated indigenous Greek ewes, during non-breeding season. **Small Ruminant Research**, v. 39, p. 67-71, 2001.

KELMAN, G. R. et al. Cardiac output and arterial blood gas tension during laparoscopy. **British Journal of Anaesthesia**, v. 44, p. 1155-1162, 1972.
(Resumo)

KERSHAW, C. et al. The pattern of COX-2 and EP4 mRNA expression in the ovine cervix during the oestrus cycle. **Reproduction Abstract Series**, v. 31, p. 16, 2004.

KERSHAW, C. M. et al. The anatomy of sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. **Theriogenology**, v. 64, p. 1225-1235, 2005.

KHALIFA, R. M.; SAYRE, B. L.; LEWIS, G. S. Exogenous oxytocin dilates the cervix in ewes. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 38-42, 1992.

KILLEEN, I. D.; CAFFERY, G. J. Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. **Australian Veterinary Journal**, v. 59, p. 95, 1982.

LANGFORD, G. A. et al. A comparison of fresh and frozen semen in the insemination of confined sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 59, p. 685-691, 1979.

LEDGER, W. L.; ELLWOOD, D. A.; TAYLOR, M. J. Cervical softening in late pregnant sheep by infusion of prostaglandin E-2 into a cervical artery. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 69, p. 511-515, 1983.

LEETHONGDEE, S. et al. The effects of the prostaglandin E analogue Misoprostol and follicle-stimulating hormone on cervical penetrability in ewes during the peri-ovulatory period. **Theriogenology**, v. 67, p. 767-777, 2007.

LEVIE, M. D. **Laparoscopic complications and their prevention**. Disponível em: <www.medscape.com>. Acesso em março de 2009.

LIGHTFOOT, R. J.; SALAMON, S. Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. I. Transport and viability of spermatozoa within the genital tract of ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 22, p. 385-398, 1970.

LÓPEZ-BREA, J. J. G. Inseminación artificial em ganado ovino. In: CURSO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 19, 1996, Madrid. **Resumen...** Madrid: INIA, 1996, p. 1-14.

LÜTKE, C. Hipóxia/hipoxemia transoperatória. Faça o diagnóstico, localize a causa e trate. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANESTESIOLOGIA, 48., 2001, Recife Pernambuco. **Anais...** Recife: Sociedade de Anestesiologia do Estado de São Paulo. Disponível em: <<http://www.anestesiologia.com.br>>. Acesso em: 04 fev 2009.

MAXWELL, W. M. C. Artificial insemination of ewes with frozen- thawed semen at a synchronized oestrus. 2 Effect of dose spermatozoa and site of intrauterine insemination on fertility. **Animal reproduction science**, v 10, p 309 – 316, 1986.

MAXWELL, W. M. C.; HEWITT, L. J. A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination of sheep. *Journal of Agricultural Science*, v. 106, p 191 – 193, 1986.

MAXWELL, W. M. C.; WATSON, P. F. Recent progress in the preservation of ram semen. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.55-65, 1996.

MAXWELL, W. M. C.; BUTLER, L. G.; WILSON, H. R. Intrauterine insemination of ewes with frozen semen. **Journal of Agricultural Science**, v. 102, p. 233-235, 1984 (a).

MAXWELL, W. M. C.; WILSON, H. R.; BUTLER, L. G. Fertility of ewes after intrauterine insemination with frozen semen. **Animal Production in Australia**, v. 15, p. 448-451, 1984 (b).

McKELVEY, B. AI and embryo transfer for genetic improvement in sheep: the current scene. **In Practice**, v. 21, p. 190-195, 1999.

MILCZEWSKI, V. et al. Inseminação artificial intrauterina e cervical em ovelhas utilizando sêmen refrigerado. **Archives of Veterinary Sciences**, v. 5, p. 35-39, 2000.

MOSES, D. et al. A large-scale program in laparoscopic intrauterine insemination with frozen-thawed sêmen in Australian Merino sheep in Argentine Patagonia. **Theriogenology**, v. 48, p. 651-657, 1997.

MOURA, D. S. et al. Estudo morfológica da cérvix de ovelhas. IN: 8° CONIC (CONGRESSO NACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA) E 6° COINT

(CONGRESSOS NACIONAL E INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA), 2008, Botucatu. **Resumos...** Botucatu: SEMESP, 2008.

NAQVI, S. M. K. et al. Cervical penetration and transcervical AI of tropical sheep (Malpura) at natural oestrus using frozen-thawed semen. Technical note. **Small Ruminant Research**, v. 29, p. 329-333, 1998.

NAQVI, S. M. K. et al. Development and application of ovine reproductive technologies: an Indian experience. **Small Ruminant Research**, v. 39, p. 199-208, 2001.

OWINY, J. R.; FITZPATRICK, R. J. Effect of intravaginal application of prostaglandin E2 gel on the mechanical properties of the ovine cervix uteri at term. **Journal of Obstetric and Gynecology**, v. 163, p. 657-660, 1990.

PERKINS, N. R.; HILL, J. R.; PEDRANA, R. G. Laparoscopic insemination of frozen-thawed semen into one or both uterine horns without regard to ovulation site in synchronized merino ewes. **Theriogenology**, v. 46, p. 541-545, 1996.

PURI, G. D.; SINGH, H. Ventilatory effects of laparoscopy under general anesthesia. **British Journal of Anaesthesia**, v.68, p. 211-213, 1992. (abstract)

REDE Morada Nova: EMBRAPA Caprinos e Ovinos. Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br/redemoradanova/rede.htm>>. Acesso em: 23 abril 2009.

REID, D. L. et al. Influence of terbutaline on ovine uterine response to prostaglandin E2 challenge. **Journal of Obstetric and Gynecology**, v. 166, p. 231-235, 1992.

RODRIGUES, L. F. S. et al. Sincronização do estro em ovelhas deslanadas: efeito de diferentes doses de gonadotrofina coriônica equina sobre a taxa de ovulação. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, p. 215-222, 2004.

ROLL, S.; CAMPOS, F. G. C. M. Hernioplastia inguinal por via laparoscópica. In: **Vídeo-cirurgia**. Colégio Brasileiro de Cirurgiões. São Paulo: Editora Robe; 1994. P. 326-338.

SALAMON, S.; LIGHTFOOD, R. J. Fertility of ram spermatozoa frozen by pellet method. III. The effects of insemination technique, oxytocin and relaxin on lambing. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 22, p. 409-423, 1970.

SALAMON, S.; MAXWELL, W. M. C. Frozen storage of ram semen: II Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. **Animal Reproduction Science**, v. 38, p. 1-36, 1995.

SALIHOGU, Z. et al. Influence of the patient positioning on respiratory mechanisms during pneumoperitomium. **Middle East Journal of Anesthesiology**, v. 16, n. 5, p. 521-528, 2002.

SHARMA, K. C. et al. Laparoscopic surgery and its potential for medical complications. **Heart & Lung**, v. 26, n. 1, p. 52-64, 1997.

SHEMESH, M. et al. Regulation of bovine cervical secretion of prostaglandins and synthesis of cyclooxygenase by oxytocin. **Reproduction and Fertility Development**, v. 9, p. 525-530, 1997.

SIMPLÍCIO, A. A. **Caprino-ovinocultura: uma alternativa à geração de emprego e renda.** Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/index.php?p=texto&&idT=575>>.

Acesso em: 08 março 2007.

SIMPLÍCIO, A. A. Estratégias de manejo reprodutivo como ferramenta para prolongar o período de oferta de carnes caprina e ovina no Brasil. **Tecnologia & Ciências Agropecuária**, v. 2, n. 3, p. 29-39, 2008.

STELLFLUG, J. N. et al. Oxytocin-induced cervical dilation and cervical manipulation in sheep: effects on laparoscopic artificial insemination. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 568-573, 2001.

STOW, P. J. Retinal haemorrhage following laparoscopy. **Anaesthesia**, v. 41, n. 9, p. 965-966, 1986.

STYS, S. J. et al. Effect of prostaglandin E2 on cervical compliance in pregnant ewes. **American Journal of Obstetric and Gynecology**, v. 140, p. 415-419, 1981.

THIMONIER et al. Déclenchement de l'œstrus et obtention de la gestation pendant l'œstrus post-partum chez la brebis à l'aide d'éponges vaginales imprégnées d'acétate de fluorogestone. **Annls Zootech**, v. 17, p. 257-273, 1968. (Abstract).

TRALDI, A. S. Biotécnicas aplicadas em reprodução de pequenos ruminantes. III FEINCO. Disponível em: <http://www.agrocentro.com.br/feinco/2006/admin/edicoes/2006/pt/congresso/download/20060814084155.pdf>>. Acesso em: 17 março 2006.

VASCONCELOS, V. R.; VIEIRA, L. S. A Evolução da caprino-ovinocultura brasileira – Embrapa Caprinos, Sobral, 12 dez. 2005. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/index.php?p=texto&idT=577>>. Acesso em: 08 março 2007.

VERBERCKMOES, S. et al. Cervical insemination in sheep. **Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift**, v. 70, p. 475-480, 2001.

VISSER, D. Recent advances in the deep freeze preservation of ram semen. **Journal of Animal Science**, v. 4, p. 275-88, 1974.

WINDSOR, D. P. et al. Transcervical artificial insemination of Australian Merino ewes with frozen-thawed semen. **Theriogenology**, v. 42, p. 147-157, 1994.

WINDSOR, D. P. Factors influencing the success of transcervical insemination in Merino ewes. **Theriogenology**, v. 43, p. 1009-1018, 1995.

WING, D. A.; HAM, D.; PAUL, R. H. A comparison of orally administered misoprostol with vaginally administered misoprostol for cervical ripening and labor induction **Journal of Obstetric and Gynecology**, v.180, p. 1155-1160, 1999.

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

WULSTER-RADCLIFFE, M. C.; COSTINE, B. A.; LEWIS, G. S. Estradiol-17 β -oxygen-induced cervical dilation in sheep: application to transcervical embryo transfer. **Journal Animal Science**, v. 77, p. 2587-2593, 1999.

YOSHIDA, M. Conservation of sperms: current status and new trends. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 349-55, 2000.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)