

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Inseminação artificial em ovinos

José Ailton de Oliveira Lucena

2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Inseminação artificial em ovinos

José Ailton de Oliveira Lucena
Graduando

Carlos Enrique Peña Alfaro
Orientador

Patos
Agosto de 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

JOSÉ AILTON DE OLIVEIRA LUCENA
Graduando

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para
obtenção do grau de Medico Veterinário.

ENTREGUE EM/...../.....

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlo Enrique Peña Alfaro

Nota _____

Profª Drª. Norma Lúcia de Souza Araújo

Nota _____

Profª Drª. Melania Loureiro Marinho

Nota _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

JOSÉ AILTON DE OLIVEIRA LUCENA
Graduando

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para
obtenção do grau de Medico Veterinário.

APROVADO EM/...../.....

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro (Orientador)

Profª Drª. Norma Lúcia de Souza Araújo (Examinador I)

Profª Drª. Melania Loureiro Marinho (Examinador II)

Dedico

Aos meus pais de criação, Pedro (in memorian), Geny, Iracema, aos meus pais biológicos Jailton e Maria (in memorian) que sempre foram um exemplo de força e determinação, que nos momentos mais difíceis, sempre continuaram me apoiando e estimulando.

A minha irmã Danielly.

Aos meus familiares de quem sempre recebi incentivo, apoio e amizade.

Juliana Cristina por todo amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente por ter derramado sobre minha vida suas bênçãos imensuráveis.

Ao meu bisavô João Brito (in memorian) homem de exemplo, dignidade e honestidade.

A meu pai de criação (in memorian) Pedro a quem amo muito que sempre me apoiou e me ensinou o que é o certo e errado, a ser uma pessoa honesta, de dignidade, etc... e sei que está ao lado de Deus olhando por mim...

À minhas mães de criação Geny e Iracema que sempre esta ao meu lado em todos os momentos da minha vida e que nunca mediram esforços para me ajudar, dando sempre exemplos de determinação e coragem. E que sempre se esforçaram para me conceder a melhor educação.

A meu pai biológico Jailton que um pouco ausente mais sei que sempre torceu por mim.

A minha mãe biológica Maria (in memorian) que em vida sempre me aconselhou tomar as decisões corretas. Sei que também esta ao lado de Deus feliz e olhando por mim...

À minha irmã querida que sempre torceu por mim e me apoiou a todo momento mesmo sem morarmos juntos.

Aos meus avós paternos Ínacio (in memorian) e Socorro.

Aos meus avós maternos Eusebio (in memorian) e Alzira.

À minhas tias Luzia, Jandira, Rita, Aurinha estas quatro em especial. Rejane, Jailma, Aparecida, Diana, Regina, Maria José, Fernanda onde todas sempre tiveram um carinho imenso por mim.

Aos meus tios Manoel (NECO), Emanuel (NENEM), Deca, estes três em especial. Joselito (in memorian), Joailton, José Carlos, Antonio...

A todos os meus primos em especial Andersom (BIG), Thiago, Eduardo, Maria Lucia, Ivan, João, Ivanildo, Jacileide, Juninho, Aurivanda, Ivanzinho, Filipe, Aurizete, Aurea, José, Assis, Paulinha, Alysom, Aline, Artur, Jussara, Jackes, Arthur, Eduardo Henrique (este de consideração) Mariana, José Filipe, José Filho, Maria Isabel Alexsandro, Estela, Estefane, José Eduardo, José Thiago, Luis..... todos esses que sempre torceram por mim e me ajudaram e me ajudaram de todas as formas.

A todos os maridos e esposas dos meus primos e tios, em especial Elcio, Daguia, José Peregrino, Luciano, Antonio, Deca.

Ao meu grande amor Juliana Cristina, pelo seu amor, carinho, companheirismo e dedicação imensuráveis, e por me fortalecer em momentos difíceis em minha vida.

A minha sogra e minha cunhada e sua sobrinha Maria Elisa, Joseneide e Renata ao qual tenho um imenso carinho e apreço.

A todos os meus amigos em especial Rondnelly (o mago), Berg (01), Leandro (51), Léo (in memorian)Tiago (o Doido), Alessyo(o caveira) Romulo, Paulinho (belmont), junior (Dig vigarista), Cicero (Mandibula), Naelso (Olho), Hugo, Pablo....

À Aline Leal hoje em dia uma grande amiga no qual sempre torceu por mim e me apoia, D. Adriana, D. Lurdes, Ari, Alisom pessoas estas que tenho como sendo da família a qual tenho uma imensa consideração.

Aos meus amigos de escola em especial Juliana (Nany), Mariana, Aluisio (Pipoca), Hermes (Punk), Carol (A globeleza), Carolzinha, Izabela, Tassy, Thalita, Pablo (o Branco), Pablo(negão), Weton, Candido, Danilo (Luciano Hulk), Filipe (in memorian), Filipe Sampaio, Rodolfo, João Vital, Eduardo, Thiago... que hoje cada um seguiu seu caminho mas que a amizade será para sempre.

A todos os meus amigos de faculdade, que em cinco anos viramos um família, onde passamos alegrias e dificuldades juntos em especial, Marcio (Carrerinha), Renato, (o mago), Jorge (o Daleti), Klênio, Zeno e Hugo ... Hyago, Paulo Vinicius, Jeferson, Daniel, Filipe, Sayonara, Suelem, Samya, Jonia, Angelica, Ana Rosalina, Lisanka, Vinicius, Edgar, Jamilton, Matheus, Vitor Hugo (o Velhote), Fabio Duarte, Danilo, Diogo, Pedro, Flaubert, Radymacio, _____, Gilzane, Elane, Temistocles, Ariclones, Cicero, José Carlos (Carroça), João Neto(loro), Rodolfo....

Ao professor Carlos Peña e Norma Lucia estes que contribuíram com o desenvolvimento do trabalho.

A professora Melania Loureiro a quem tenho um carinho imenso.

A todos os professores que deixaram não só ensinamentos profissionais, mas ensinamentos para a vida inteira.

Ao Dr. Leonardo e sua esposa Sibebe, Dra Aline, Dr Rodrigo Mendes e a todos do Centro Medico Veterinário, pela amizade construída, e por terem me dado oportunidade de estágio no qual adquiri bastante conhecimento sendo fundamental

para minha vida profissional.

A todos os funcionarios que direta e inderetamente foram fundamentais nesta etapa da minha vida.

E a todos que sempre me apoiaram e acreditaram na minha capacidade.

Meu Obrigado....

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1. Histórico da inseminação artificial.....	15
2.2. Avaliação do macho reprodutor	15
2.3. Coleta do sêmen	16
2.3. Coleta do sêmen	17
2.4. Avaliação do sêmen.....	19
2.4.1 Avaliação macroscópica.....	20
2.4.2 Avaliação microscópica.....	20
2.5. Formas de utilização e processamento do sêmen	24
2.5.1. Sêmen fresco	24
2.5.2. Sêmen refrigerado.....	24
2.5.3. Sêmen congelado.....	25
2.6 As fêmeas ovinas	26
2.6.1 Aspectos anatômicos da cérvix ovina	27
2.6.2. Fisiologia da reprodução na ovelha em diferentes estações reprodutivas	28
2.6.3. Estação de monta	30
2.6.3.1. Vantagens	30
2.6.4. Sincronização do cio.....	31
2.6.4.1 Efeito macho.....	31
2.6.4.2 Efeito artificial.....	31
2.6.4.2.1 Prostaglandina F2 α seus análogos sintéticos	32
2.6.4.2.2 Progestágenos	32
2.6.5 Técnicas de inseminação	34
2.6.5.1 Método vaginal.....	35
2.6.5.2 Método cervical superficial	35
2.6.5.3 Inseminação intracervical	37
2.6.5.4 Inseminação artificial transcervical	37
2.6.5.5 Laparoscópica.....	39
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Macho ovino mostrando características masculinas.	16
Figura 2. Momento da coleta do sêmen.	17
Figura 3. Eletroejaculadores para ruminantes.	18
Figura 4. Vagina artificial (V.A) para coleta de sêmen de ovino e caprino. A esquerda V.A artesanal e a direita V.A industrial.....	19
Figura 5. Tubo coletor graduado contendo um ejaculado.....	20
Figura 6. microscópio de contraste de fase.	23
Figura 7. Avaliação microscópica do sêmen.	23
Figura 8. A esquerda anatomia do aparelho reprodutor feminino. A direita a cervix com seis anéis cervicais.....	28
Figura 9. Esponja intravaginal de alta densidade com um cordão de 15 centímetros de comprimento amarrado em cruz para facilitar a retirada, impregnada com progestágenos, com aplicação de antibiótico (oxitetraciclina).....	33
Figura 10. Inseminação artificial cervical superficial.	36
Figura 11. Inseminação artificial transcervical.	39
Figura 12. Aparelho laparoscópico.....	41
Figura 13. Animal contido e devidamente tricotomizado para se realizar a laparoscopia.	42
Figura 14. Método de inseminação artificial por laparoscopia. Posicionamento dos dois trocartes, nos quais foram posicionadas a óptica e a pinça de manipulação uterina ou aplicador de sêmen.	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração do sêmen de carneiro avaliado por sua aparência e cor.....	21
Tabela 2. Escala de vigor espermático.	22
Tabela 3. Tempo de inseminação em ovelhas de acordo com o tipo de estro e a técnica de inseminação.	34

RESUMO

LUCENA, JOSÉ AILTON DE OLIVEIRA. Inseminação artificial em ovinos. Patos - PB, UFCG. 2010. 51 p. (Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário)

A criação e o mercado da ovinocultura encontram-se aquecido e em amplo crescimento, o criador tem o desafio de incrementar seu negócio, investindo em genética estando atento a todas as transformações do mercado que possam agregar valor a sua criação. Cada vez mais o uso de tecnologias reprodutivas vem dando um grande impulso a estas criações, entre estas, a inseminação artificial. Esse trabalho objetiva fazer uma revisão de literatura sobre a técnica de inseminação artificial em ovinos em seu amplo aspecto como: avaliação do macho reprodutor, coleta do sêmen, os métodos pelos quais é feita a coleta de sêmen, avaliação do sêmen quanto aos aspectos macro e microscópico (Cor, odor, Volume do ejaculado, pH, Movimento em massa macroscópico, concentração, movimento em massa microscópico ou turbilhonamento, motilidade individual progressiva, morfologia espermática, vigor, índices de sobrevivência), formas de utilização e processamento do sêmen (sêmen fresco, refrigerado e congelado), aspectos anatômicos da cérvix ovina, fisiologia da reprodução na ovelha em diferentes estações reprodutivas, estação de monta, sincronização do cio e as principais técnicas de inseminação; vaginal, cervical superficial, intracervical, transcervical e laparoscópica, observando também a viabilidade da utilização da técnica, enfatizando o manejo sanitário e nutricional adequado, pois só dessa forma haverá sucesso na técnica, portanto foram observadas as técnicas atuais e as inovações na inseminação de ovinos, pois com o uso e aprimoramento destas técnicas podem acelerar a produção nessa espécie, aumentando assim a eficiência produtiva.

Palavras chaves: inseminação artificial, ovinos, biotecnias de melhoramento do rebanho.

ABSTRACT

LUCENA, JOSÉ AILTON DE OLIVEIRA. Artificial insemination in sheep. Patos - PB, UFCG. 2010. 51 p. (Monograph submitted to the Veterinary Medicine Course as partial requirement for the Medic of Veterinary degree).

The creation and marketing of sheep breeding are heated and widespread growth, the desingner has the challenge of increasing its business by investing in genetics are aware of all changes in the market that can add value to its creation. Increasingly the use of reproductive technologies has been giving a great impetus to these works, among them, the artificial insemination. This paper aims to review the literature on the technique of artificial insemination in sheep in the broad look like: evaluation of stallion, semen collection, the methods by which it is made semen collection, semen evaluation regarding the macro and microscopic (color, scent, volume of ejaculate, pH, bulk macroscopic motion, concentration, mass movement or microscopic turbulence, individual progressive motility, sperm morphology, vigor, survival rates), forms of use and processing of semen (fresh semen , chilled and frozen), anatomy of the ovine cervix, physiology of reproduction in sheep in different breeding seasons, breeding season, estrus synchronization and the main techniques of insemination, vaginal, cervical superficial intracervical, transcervical and laparoscopic, noting also the feasibility of using the technique, emphasizing the proper management of health and nutrition, for only thus will be successful in the technique, therefore, showed the current techniques and innovations in artificial insemination of sheep, because the use and improvement of these techniques can increase productivity in this species, thus increasing productive efficiency.

Key words: artificial insemination, sheep, biotech breeding herd.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a criação e o mercado da caprino-ovinocultura encontra-se aquecido e em amplo crescimento e o criador e consumidor, parte fundamental do processo, busca, cada vez mais, por produtos e empresas que ofereçam, acima de tudo, qualidade. Já o criador tem o desafio de incrementar seu negócio, investindo em genética e estando atento a todas as transformações do mercado que possam agregar valor a sua criação.

A ovinocultura que em 2009 apresentava um efetivo de 16.239.455 cabeças (IBGE, 2009), tem procurado aumentar a sua participação no agronegócio brasileiro, pela maneira que ela está crescendo em algumas regiões como a do sudeste e nordeste, por exemplo, esta última que detém a maior parte do rebanho ovino nacional, equivalente a 57,2% (IBGE, 2009), apresenta aptidão natural para produção desta espécie.

Cada vez mais o uso de tecnologias reprodutivas vem dando um grande impulso a estas criações, entre estas, a inseminação artificial, que é realizada mediante a deposição mecânica de sêmen, no aparelho reprodutivo da fêmea.

A inseminação artificial (IA) é a técnica singular mais segura e é aquela que propicia maior amplitude de resultados nos programas de melhoramento animal. A adequada seleção dos atributos produtivos e reprodutivos de machos e fêmeas é a base essencial para maximização do potencial dessa técnica como ferramenta de melhoramento. Permite que reprodutores de elevado mérito genético produzam espermatozoides em números suficientes para inseminar elevado número de fêmeas por ano quando comparado à monta natural (AX, et al. 2004). Essa técnica pode ser empregada com sêmen *in natura*, diluído, resfriado ou congelado-descongelado (GONZALES, et al. 2002).

Nos ovinos, existem várias técnicas de I.A.: vaginal, cervical superficial, intracervical, transcervical e laparoscópica. Com a presente revisão de literatura objetiva-se abordar os diversos aspectos relacionados à inseminação artificial em ovinos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Histórico da inseminação artificial

No século XIV um chefe mulçumano, desejando obter descendentes de um cavalo do chefe inimigo, conseguiu furtar o esperma numa pelota de algodão, com a qual fecundou uma égua no cio (TORRES, A.P.1986).

O primeiro grande marco histórico, entretanto, coube ao célebre abade Lazzaro Spallanzani, foi ele realmente o primeiro investigador a realizar uma inseminação artificial em mamífero. Colheu o sêmen de um cão, pelo processo da masturbação, e, inseminou uma cadela, da qual nasceram três filhotes vivos e normais (MIES FILHO, 1975).

As primeiras inseminações artificiais em ovinos foram realizadas por Ivanov em 1901 a 1905. Os experimentos que serviram de base para Quinlan, Maré e Roux no ano de 1932, que observaram a vitalidade dos espermatozoides nas genitais das ovelhas, e principalmente com o trabalho de Kusenov relativos à construção da primeira vagina artificial para espécie, o emprego de seringas para injeções de micro doses de sêmen e o lançamento da base teórica para a diluição de sêmen. Outro passo decisivo foi dado por Gunn, com a aplicação do eletroejaculador (MIES FILHO, 1975).

As primeiras inseminações artificiais no Brasil em ovinos foram realizadas pelo Ministério da Agricultura no Rio Grande do Sul na década de 40. O primeiro posto oficial foi implantado em 1943, na fazenda Cinco Cruzes, em Bagé, onde se encontra o atual Centro de Pecuária dos Campos Sul brasileiros da Embrapa (GONÇALVES, et al. 2008).

2.2. Avaliação do macho reprodutor

A escolha do macho reprodutor é importante, pois, na prática da inseminação artificial é de suma importância se obter sêmen de boa qualidade, de animais com boa capacidade reprodutiva, ou seja, capazes de fertilizar e gerar produtos e que consigam transmitir a seus descendentes as características de interesse do produtor (NUNES, 2002).

Os machos ovinos são precoces, atingindo a maturidade sexual dos seis aos oito meses de idade. Os animais jovens, porém maduros, têm produção de sêmen inferior à dos animais adultos. Os adultos atingem, próximo aos dois anos de idade, o peso, o desenvolvimento corporal e a produção espermática ideais esperados da raça. Diminuem o

potencial reprodutivo por volta dos oito anos de idade, quando deverá ser substituído (NUNES, 2002).

As características que se devem ser observadas nos reprodutores (figura 1.) são: ter testículos simétricos, ovoides, firmes e presentes na bolsa escrotal; ser insento de alterações penianas ou prepucias; apresentar boa libido; possuir integridade escrotal; ser sadio; não apresentar hernia umbilical; não apresentar tetas supranuméricas ou tetas bífidas; não ser agnata nem prognata; ter bons cascos e aprumos e apresentar um espermograma dentro dos padrões de normalidade como, volume: 0,5 a 2,0 mililitros (mL); cor: do branco ao amarelado; aspecto: variando de leitoso ao cremoso; concentração: de três bilhões de espermatozoides/ ml; motilidade espermática e turbilhonamento maior que 3 e alterações morfológicas menor que 15% (NUNES, 2002).



Figura 1. Macho ovino mostrando características masculinas.

Fonte: www.portoreserva.com.br/rep.htm

2.3. Coleta do sêmen

No carneiro a coleta de sêmen (figura 2.) pode ser realizada de dois métodos, pela eletroejaculação (E.E.) (figura 3.) este é realizado pela introdução de uma sonda elétrica bipolar no reto do animal. O estímulo é de baixa voltagem é aplicado com um tempo de 2 a 4 segundos com intervalos de 10 a 20 segundos até que ocorra a ejaculação. Nas coletas de sêmen por E.E. há muitas variáveis quanto à concentração e o volume espermático. O método por E.E é muito estressante, no entanto ele só deve ser usado em casos de extrema necessidade (HAFEZ, 2004). O aumento da frequência de ejaculação não altera, no entanto, a qualidade dos espermatozoides (SALAMON; MAXWELL, 1995). Para se obter um máximo de espermatozóides, a frequência das colheitas deverá ser adaptada à capacidade do animal (COUROT, 1979 citado por BETTENCOURT, 1999).



Figura 2. Momento da coleta do sêmen.

Fonte: PEÑA.-ALFARO, CARLOS ENRIQUE.



Figura 3. Eletroejaculadores para ruminantes.

Fonte: LUCENA, JOSÈ AILTON DE OLIVEIRA.

Sendo o outro método realizado pela vagina artificial (V.A.) e é o mais indicado, pois apresenta semelhança com o ato da cópula (GONÇALVES, et al. 2008). A vagina artificial consiste em tubo de 20 a 25 centímetros de comprimento e de 5 a 7 centímetros de diâmetro e uma mucosa de borracha (figura 4.). A mucosa deve ser bem lubrificada e deve estar numa temperatura entre 42°C e 46°C. O reprodutor deve saltar sobre a ovelha ou manequim e o pênis deve ser delicadamente desviado para dentro V.A. a pressão interna da vagina varia conforme os reprodutores. O tubo coletor deve estar aquecido a 37°C para evitar choque térmico (FERRA, et al. 2006). Depois da ejaculação, o tubo contendo o sêmen é removido e mantido em banho maria a 30°C até atingir a mesma temperatura, sendo em seguida avaliado segundo: volume, cor, aspecto, concentração, turbilhonamento e morfologia espermática (NUNES, 2002).



Figura 4. Vagina artificial (V.A) para coleta de sêmen de ovino e caprino. A esquerda V.A artesanal e a direita V.A industrial.

Fonte: LUCENA, JOSÈ AILTON DE OLIVEIRA.

2.4 Avaliação do sêmen

O espermatozoide para ser qualitativamente viável e potencialmente fértil é necessário que possua morfologia, atividade metabólica e membranas normais. São pré-requisitos a presença de membranas íntegras, para que os eventos relacionados ao processo de fertilização, como a capacitação espermática, penetração nos revestimentos do ovócito, ligação à zona pelúcida e fusão com oolema possam ocorrer (YANAGIMACHI, 1994).

A avaliação macro e microscópica do material seminal permitem determinar a qualidade, viabilidade e fertilidade dos espermatozoides. Não se dispõe de uma prova única para detectar com exatidão a fertilidade dos ejaculados individuais, porém quando se combina cuidadosamente várias delas, podem-se selecionar os ejaculados para utilizar os que tenham um potencial de fecundação mais elevado entre os demais (AISEN, 2008).

Uma vez coletado é necessário que o sêmen não seja exposto a condições desfavoráveis que afetem sua viabilidade. (AISEN, 2008).

2.4.1 Avaliação macroscópica

Cor e odor: o sêmen de carneiro é normalmente branco cremoso. Devem ser descartados os ejaculados que possuam coloração branca rosada que indica existência de sangue, ou acinzentada que indica algum tipo de infecção no aparelho reprodutor. A presença de urina é um acontecimento frequente quando o sêmen é obtido por eletroejaculação e confere ao sêmen um odor característico, e este não deve ser processado (AISEN, 2008).

Volume do ejaculado: o volume médio é de 1 mL (0,5 a 3,0 mL)(GONÇALVES, et al. 2008). Esse volume depende da raça, idade, estado geral do macho e habilidade do operador. No geral são descartados volumes de ejaculados inferiores a 0,4 mL. Pode ser medido diretamente no tubo coletor se este for graduado (figura 5.), ou então com uma pipeta calibrada (AISEN, 2008).



Figura 5. Tubo coletor graduado contendo um ejaculado.

Fonte: LUCENA, JOSÈ AILTON DE OLIVEIRA.

pH: determinado colocando-se uma gota de sêmen sobre uma fita de papel tornassol (BETINI, et al. 1998). O normal do pH é está em torno de 7,0 (GONZALES, et al. 2002).

Movimento em massa macróscopico: os espermatozóides em movimentos vigorosos se deslocam criando ondas que são visíveis a curta distância (AISEN, 2008).

2.4.2 Avaliação microscópica

Concentração: determinada no espectrofotômetro ou microscópio. A concentração de espermatozoides (número de células espermáticas por unidade de volume) pode ser expressa em espermatozoides /mL. Os valores normais para carneiros oscilam em torno de 3 a 7 bilhões de espermatozoides /mL. Sua determinação pode ser de subjetiva que é por meio da aparência, cor do ejaculado (tabela 1) (AISEN, 2008).

Tabela 1. Concentração do sêmen de carneiro avaliado por sua aparência e cor (EVANS; MAXWELL, 1990).

Valor	Cor / consistência	Concentração espermática (x milhões/ mL)
5	cremosa espessa	5.000
4	cremosa	4.000
3	cremosa suave	3.000
2	leitosa	2.000
1	nebulosa	700
0	aquosa	insignificante

Movimento em massa microscópico ou turbilhonamento: movimento da massa de espermatozoides no plasma seminal. Assemelha-se a ondas do mar e pode receber notas que variam de 0 (sem movimentos) a 5 (movimentos muito fortes). Para ser considerado bom deve ser classificado com nota no mínimo 3 (GONZALES, et al. 2002). Para fazer a avaliação do turbilhonamento, deve-se colocar uma gota de sêmen puro (sem diluir) em uma lâmina limpa e aquecida a 37°C. (BETINI, et al. 1998). Observam-se as ondas características, sem lamínula (40 ou 100 x), no bordo da gota (AISEN, 2008).

Motilidade individual progressiva (MP): movimento em flecha de cada espermatozóide (GONÇALVES, et al. 2001). Este é um dos parâmetros mais utilizados na avaliação do sêmen. Para a determinação da motilidade individual coloca-se uma gota de diluente isotônico e uma pequena gota de sêmen fresco em uma lâmina a 37°C (AISEN, 2008).

Morfologia espermática: indica a porção de células espermáticas anormais (sem cauda, com cauda dupla, com dupla cabeça, cabeça estreita, cabeça ausente, etc.) dentro dessa população não deve ultrapassar os 15%. As anormalidades morfológicas dos espermatozoides apresentam a mais alta relação com a fertilidade dos rebanhos. O estresse térmico provoca alta incidência de espermatozoides deformados (HAFEZ, 2004).

Vigor: ao mesmo tempo em que determina a porcentagem de motilidade espermatocica pode-se aferir o tipo de movimento ou vigor (AISEN, 2008). Que é classificada numa escala de 0 a 5 pontos (tabela 2), onde os valores mais elevados indicam sêmen de melhor qualidade (BETINI, et al. 1998).

Tabela 2. Escala de vigor espermático (AISEN, 2008).

Valor	Caractreisticas
0	Espermatozóides imóveis ou mortos
1	Espermatozóides sem movimento progressivo, girando sobre si mesmo.
2	Espermatozóides com movimento anormal ou eventual progressivo
3	Espermatozóides com movimento progressivo lento e sinuoso
4	Espermatozóides com movimento progressivo muito rápido
5	Espermatozóides com movimentos progressivo e enérgico

Índices de sobrevivência: segundo Betini, et al. (1998), este é outro critério que faz parte da análise do sêmen; determinado em microscópio óptico de contraste de fase (figura 6.) em 40x, a partir de esfregaço feito com mistura de uma gota de eosina vermelha a 3 %, uma gota de nigrosina a 5% e uma gota de sêmen; homogeneizar a mistura por 30 segundos; colocar uma gota dessa mistura na lâmina, e preparar um esfregaço que após a secagem será levado no microscópio em 40x. Para determinar o valor desses índices, deve-se contar 100 espermatozóides entre corados e brancos, onde os brancos serão os sobreviventes, dividir as células brancas pelo total e multiplicá-las por 100.



Figura 6. Microscópio de contraste de fase.

Fonte: LUCENA, JOSÈ AILTON DE OLIVEIRA.



Figura 7. Avaliação microscópica do sêmen.

Fonte: PEÑA.-ALFARO, CARLOS ENRIQUE .

2.5. Formas de utilização e processamento do sêmen

O sêmen obtido e avaliado como apto requer um processamento adequado para garantir a capacidade fecundante dos espermatozóides durante o tempo que decorre entre a ejaculação e sua utilização (AISEN, 2008).

2.5.1. Sêmen fresco

A inseminação com sêmen colhido recentemente, sem um descenso térmico para sua conservação, é possível somente quando ambos os processos são praticados no mesmo estabelecimento. Uma vez obtido o ejaculado, deve se mantê-lo em um banho termostatizado a 37°C, evitando-se qualquer tipo de variação térmica (AISEN, 2008).

O sêmen fresco pode ser utilizado puro ou diluído, o sêmen puro é utilizado no volume de 0,02 a 0,1 mL, pela via cervical, corresponde a uma concentração de 50 a 200 milhões de espermatozóides por dose (GONÇALVES, et al. 2008).

Os diluentes podem ser sintéticos ou naturais. Os sintéticos são compostos por substâncias tampão como tris-hidroximetilaminometano (TRIS) ou citrato de sódio, bases energéticas glicose ou frutose e gema de ovo para evitar choque térmico (GONÇALVES, et al. 2008).

Os diluentes naturais são o leite desnatado, que fornece lipoproteínas, sendo capaz de tamponar o pH e dar estabilidade e osmolaridade adequadas a mistura (AISEN, 2008). Outra alternativa é a água-de-coco, uma solução ácida esteril, contendo, sais, vitaminas, minerais, açúcares, proteínas, gordura neutra, além de ter indutores da divisão celular e eletrólitos, a densidade e o pH são compatíveis com a do plasma sanguíneo, fornecendo nutrientes para manter a sobrevivência e viabilidade dos gametas masculinos e femininos.(BLUME, 1994; MARQUES, 1982; NUNES, 1999).

2.5.2. Sêmen refrigerado

O objetivo do sêmen resfriado é reduzir o metabolismo energético dos espermatozóides, prolongando assim sua viabilidade e capacidade fecundante no tempo (AISEN, 2008).

Para Colas; Courot (1976), pode-se conservar o sêmen ovino refrigerado a 5°C e com capacidade fertilizante somente por um período inferior ou igual a 24 horas. Robertson; Watson (1987) verificou redução na motilidade espermática entre 24 e 48 horas de armazenamento.

Segundo Evans; Maxwell (1987), Maxwell; Salamon (1993), Salamon; Maxwell (1995) e Salamon; Maxwell (2000) entre a faixa de 20°C e 0°C há maior susceptibilidade das células espermáticas ao choque térmico, causador de mudanças irreversíveis aos espermatozóides. Neste sentido os meios diluidores exercem papel fundamental na preservação do sêmen, quer no processo de refrigeração ou congelação, além do papel de expensor do volume seminal, permitindo seu fracionamento. Os meios diluidores, dentre as diversas classes existentes, apontam-se as formulações recomendadas por Evans; Maxwell (1987) a base de Tris-gema (Tris); por Cortell (1992) a base de leite desnatado e glicose (GL); e por Gonzáles et al. (1996) a base de Glicina-gema-leite (GGL).

2.5.3. Sêmen congelado

Quando o sêmen é congelado à temperatura muito baixa (-196°C), as reações metabólicas dos espermatozóides são suspensas. Isso permite que o material seminal se conserve durante longo período. Dessa forma pode-se dispor do material genético para o futuro e disponibilizar o sêmen de um reprodutor em particular em qualquer época do ano. Também é facilitado o transporte de sêmen pelo país e para o exterior. Amplia-se assim a utilização dos machos doadores, mesmo depois de mortos (AISEN, 2008).

Na congelação, a faixa de temperatura considerada crítica para danos no espermatozóide, é entre -15 e -50°C. Quando o sêmen atravessa esta faixa crítica, a atividade metabólica cessa e as células permanecem inativas (HOLT, 2000).

Para obtenção de índices superiores a 70% de gestação é necessário que o sêmen após a descongelação seja colocado diretamente no útero da fêmea, empregando-se para isto a técnica de laparoscopia. As inseminações feitas com deposição do material fecundante na porção externa da cérvix uterina, só atingem índices satisfatórios quando se emprega sêmen recém-colhido ou resfriado por até 48 horas (BICUDO, 2008).

Segundo Ribeiro (1997), com o uso da I.A. com sêmen congelado, o número de fêmeas por reprodutor é superior sendo difícil de ser determinado, onde uma única

ejaculação pode produzir de 10 até 40 doses de sêmen dependendo da quantidade do mesmo e quantidade de espermatozoides utilizados por dose.

Para Gonçalves, et al. (2001) os diluentes mais usados para sêmen congelado são constituídos a base de: leite desnatado 20 gramas (g); glicose 388 miligramas (mg); água bidestilada 200 mililitros (mL); penicilina sódica 200.000 unidades internacionais (UI); sulfato de estreptomicina 10 miligramas (mg).

Segundo Watson (1995), a gema de ovo é um dos agentes crioprotetores mais efetivos na proteção contra o choque-frio, é comumente incluído em diluentes para criopreservação, mas não é igualmente efetivo para todas as espécies. Previne o enrolamento das caudas, protege a motilidade.

Gil et al. (2003) relata que a criopreservação de sêmen de ovinos contém ingredientes e aditivos que promovem um meio adequado ao espermatozóide; o meio deve conter substratos energéticos, pressão osmótica adequada, pH ideal e compostos que protejam o espermatozóide do choque-frio, porém permitindo a sobrevivência espermática durante a manipulação, resfriamento, congelamento e descongelamento. Usualmente os ingredientes de um meio variam de compostos químicos puros até produtos de origem animal e vegetal indefinidos. A gema de ovo e o leite desnatado são dois aditivos comuns de origem animal que foram usados por anos na congelamento de sêmen ovino.

Os espermatozoides de ovinos são bem protegidos em meios à base de leite com adição de 5% de gema de ovo (GIL et al., 2003).

O meio mais comumente utilizado contém TRIS (Tris-hidroximetil-aminometano). O meio TRIS é um dos extensores mais utilizados na criopreservação de espermatozoides ovinos (EVANS; MAXWELL, 1987).

2.6 As fêmeas ovinas

Na aquisição de matrizes, é fundamental avaliar seu estado sanitário: fêmeas doentes terão seu desempenho reprodutivo comprometido. É possível trabalhar com animais registrados ou não. No primeiro caso, são animais mais caros, mas com produção normalmente superior. Para fêmeas sem registro, a caracterização racial fica em segundo plano, sendo, na maioria das vezes, animais mais baratos e com produção mais irregular (LOPES-JUNIOR, 2001).

2.6.1 Aspectos anatômicos da cérvix ovina

A cérvix tem diversas funções no processo reprodutivo, facilita o transporte espermático através do muco cervical para o interior do útero, atua como reservatório de espermatozóides e pode tomar parte na seleção de células espermáticas viáveis, impedindo assim a passagem daquelas inviáveis e defeituosas (HAFEZ, 1995).

Anatomicamente a cérvix ovina (figura 8) 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). Essa morfologia é um dos fatores que interferem na difusão da I.A na espécie ovina, o que dificulta a passagem da pipeta de inseminação pela cérvix (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 (ABUSINE, 1969; KAABI et al., 2006; MOURA et al., 2008).

Os anéis anulares cervicais na ovelha adaptam-se um ao outro, ocluindo a cérvix com segurança (HAFEZ, 1995). Esta oclusão tem como objetivo trancar a comunicação entre o útero e a vagina para se evitar grande número de infecções (EVANS E MAXWELL, 1990). A cérvix permanece firmemente fechada, exceto durante o cio, quando se relaxa levemente, permitindo a entrada dos espermatozóides no útero (EVANS E MAXWELL, 1990; HAFEZ, 1995) e durante o trabalho de parto para permitir a passagem da cria (HAFEZ, 1995). É importante lembrar que a vagina da ovelha contém pregas as quais podem produzir espaços cegos ao redor da entrada da cérvix. O reconhecimento destas pregas é fundamental para que se possa introduzir a pipeta de I.A. no interior do anel externo da cérvix (HALBERT et al., 1990).

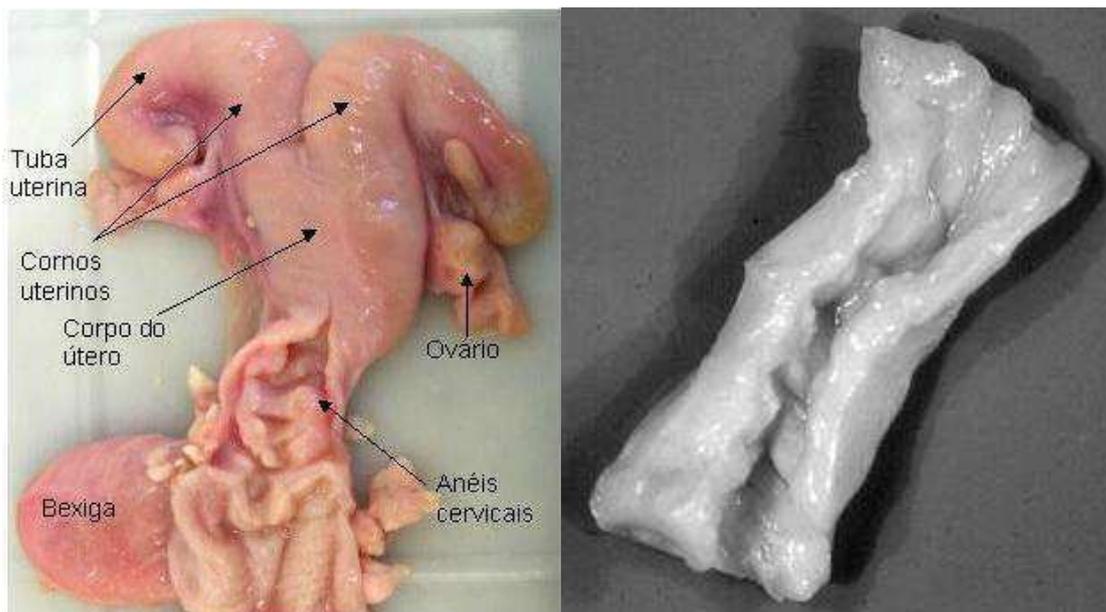


Figura 8. A esquerda anatomia do aparelho reprodutor feminino. A direita a cervix com seis aneis cervicais.

Fonte: GRANADOS, LUIS BERNABE CASTILLO.

2.6.2. Fisiologia da reprodução na ovelha em diferentes estações reprodutivas

O ciclo reprodutivo relaciona-se com vários fenômenos: puberdade e maturidade sexual, estação de monta, ciclo estral, atividade sexual pós-parto e envelhecimento. Esses componentes são regulados por fatores ambientais, genéticos fisiológicos, hormonais, comportamentais e psicossociais (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Ainda os mesmos autores comentam, de um ponto de vista prático, que indivíduos machos ou fêmeas atingem a puberdade quando se tornam capazes de liberar gametas e de manifestar seqüências de comportamento sexual.

Ovelhas Santa Inês entram em puberdade aos 6-7 meses de idade, porém, essa idade pode sofrer influência da raça, nutrição e fatores ambientais, ocorrendo o primeiro estro quando atingem entre 50 e 70% do peso vivo adulto (HAFEZ; HAFEZ, 2004; PINEDA, 1989).

A puberdade é fortemente influenciada pela época do ano em que nascem os animais, principalmente em raças sazonais criadas em condições de clima temperado, sendo que as fêmeas nascidas no início da estação reprodutiva tendem a entrar em puberdade mais cedo que as nascidas ao fim da estação reprodutiva; da mesma forma, um

plano nutricional deficitário também, pode influenciar o surgimento da puberdade tanto em machos como em fêmeas (ROBERTSON,1984; PINEDA, 1989).

O ciclo estral, definido como o intervalo entre dois estros consecutivos, dura em média 17 dias (14 e 19 dias), embora haja uma considerável variação devido a diferenças raciais, estágio da estação de monta e estresse ambiental (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Estro, ou cio, é o período no qual as fêmeas da maioria dos mamíferos aceitam o macho. O surgimento do estro determina o momento em que a fêmea começa a ser receptiva à cobertura. Sendo o período médio de receptividade sexual de 30 horas (ROBERTSON, 1984), muito embora possa ocorrer uma variação entre 24 e 36 horas na duração de estro na ovelha, sendo que raça, idade, estação do ano e presença do macho podem influenciar nesse período (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

A ovulação ocorre normalmente próximo ao fim do estro, cerca de 24 a 27 horas após o seu início, a viabilidade de um oócito é mantida por cerca de 10 a 12 horas, podendo ser estendida até 24 horas após a ovulação. A taxa de ovulação (definida como o número de oócitos liberados em cada fase de ovulação) está intimamente associada à taxa de prolificidade (PINEDA, 1989). Ela tende a aumentar conforme aumenta-se a condição corporal e tamanho podem influenciar nesta taxa (HAFEZ; HAFEZ, 2004). A ocorrência da ovulação pode ser determinada comprovando-se o subsequente aparecimento do corpo lúteo (ROBERTSON,1984).

As fêmeas da espécie ovina são poliéstricas, isto é, são capazes de manifestar estro diversas vezes, porém, em regiões de clima temperado, as ovelhas se comportam como poliéstricas estacionais, ocorrendo a estação sexual no outono e inverno sob influência do fotoperiodismo negativo que, com a diminuição da duração da hora-luz / dia e temperatura, aumenta-se a atividade estral, apresentando maior fertilidade (PILAR, 2004). Já nas zonas tropicais, onde a variação da luz é menor, a tendência dos ovinos é de se reproduzir durante todo o ano (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Neste ambiente, as ovelhas são, portanto, consideradas poliéstricas contínuas, embora possam ter maiores concentrações de estros em determinada época, nesse caso, mais deve-se à sazonalidade da oferta de alimentos do que propriamente por influência da luminosidade (BORGES, 2000).

A prenhez dura em torno de 150 dias, podendo variar de 140 a 159 dias. Essa duração é influenciada pela genética, plano nutricional, bem como condições do ambiente de criação (PINEDA, 1989).

2.6.3. Estação de monta

Estação de monta é o período no qual os animais são expostos ao acasalamento. É recomendável que, ao se fazer uma estação de monta pela primeira vez, o período seja 48 a 51 dias pois, durante este tempo, é possível acompanhar a regularidade do ciclo estral dos animais, ou seja, o intervalo é, em média, de 17 dias (RIBEIRO, 1997).

Em regiões de clima temperado, a estacionalidade reprodutiva nos ovinos é bem marcada, e o aparecimento do estro é controlado pelo fotoperíodo, isto é pelo número de horas de luz do dia. Entretanto, em regiões tropicais, onde a luminosidade não sofre grandes variações ao longo do ano, como o nordeste brasileiro, as ovelhas locais apresentam estro e ovulam ao longo de todos os meses, estando em atividade reprodutiva mais relacionada com a disponibilidade e qualidade das forragens e o estado de saúde dos animais. De uma maneira geral, ovelhas no Nordeste do Brasil se reproduzem ao longo de todo o ano, daí ser possível programar estações de monta para qualquer período do ano, sem necessariamente lançar mão do uso de hormônios para induzir o estro a ovulação. Em raças leiteiras exploradas na região Centro-Sul do Brasil, onde ocorre variação fotoperiódica significativa, verifica-se, também, estacionalidade reprodutiva, ocorrendo concentração da atividade sexual nos meses de fevereiro a julho (verão/outono), com maior intensidade no mês de abril (RIBEIRO, 1997).

O estabelecimento da estação de monta deve ser feito com critérios que deverão guardar estreita relação com os objetivos da exploração. Portanto, depende de uma série de fatores, como: o estado reprodutivo das fêmeas e dos machos; a disponibilidade de sêmen; o período em que transcorrerá o terço final da prenhez, em face de sua importância para o peso da cria ao nascer e sua sobrevivência; a época na qual ocorrerão os partos, em virtude na sua importância para a produção de leite e conseqüente sobrevivência e desenvolvimento da cria e idade ou o peso em que as crias serão desmamadas e comercializadas. A estação de monta é uma prática de manejo de baixo custo e de aplicação relativamente fácil (FREITAS et al. 2005).

2.6.3.1. Vantagens

Concentração de partos no mesmo período; padronização dos produtos nascidos; possibilidade de conhecer e acompanhar o histórico reprodutivo dos animais; possibilidade

de se detectar doenças ainda na fase inicial; facilidade no manejo sanitário e reprodutivo, dentre outros (SOARES, 2007).

2.6.4. Sincronização do cio

A sincronização do ciclo estral ou indução do cio tem a finalidade de fazer com que um grupo de ovelhas entre em cio em determinado período, para realizar uma cobertura com os métodos de manipulação do ciclo estral que pode ser, natural “efeito macho”, ou artificial utilizando fármacos como progestágenos e as prostaglandinas (LIMA, 2010).

2.6.4.1 Efeito macho

As ovelhas apresentam um padrão de incidência de cio se estão sempre em contato com carneiros ou se mantidas isoladas. Depois da separação das em anestro dos machos, por cerca de 3 a 4 semanas, quando os machos são novamente inseridos no rebanho, as fêmeas ovulam num período de 24 a 60 horas (MORAES et al. 2002). Podem ser utilizados machos rufiões (que não possuem condições de fertilizar uma fêmea) na proporção 1: 100 (AX et al. 2004).

Este fenômeno se deve à liberação do ferormônio (hormônios especias, encontrados na lã e na cera, que se acumula ao redor dos olhos do carneiro) exalado pelo macho, que é sentido pelas fêmeas através do seu sistema olfatório, atigem o tálamo, hipotálamo e determina a liberação de LH pela hipófise anterior e por estímulos visuais relacionados à presença física do macho. Ocorre aumento nos níveis e na quantidade de pulsos de LH de manutenção. Essas modificações podem induzir o pico de LH e a formação de corpo lúteo (CL) com atividade normal e manifestação de estro cerca de 19 a 21 dias depois da exposição ao macho. É aconselhável a utilização de rufiões para detecção das fêmeas em estro e não dos próprios reprodutores, para promover um melhor aproveitamento dos mesmos (GONZALEZ et al. 2002).

2.6.4.2 Efeito artificial

Os tratamentos hormonais de indução e ou sincronização de cios têm como grande objetivo induzir a fase folicular provocando a finalização simultânea de uma fase lútea quer está seja natural ou artificial (AISEN, 2008).

2.6.4.2.1 Prostaglandina F2 α seus análogos sintéticos

A finalização simultânea de uma fase lútea pode ser alcançada mediante o uso de análogos da prostaglandina F2 α como o cloprostenol, o dinaprost ou delprostenate. Sua eficácia não é total, pois alguns animais não possuem um corpo lúteo completamente sensível a o hormônio e, em outros, a luteólise já ocorrera para alcançar maior eficácia pode-se administrar duas injeções separadas em todos os animais (AISEN, 2008). O efeito luteolítico que o prostaglandina tem, promove a regressão do corpo lúteo e a diminuição da concentração sérica de progesterona (INTERVET, 2003). Nos dias 5 a 14 do ciclo estral, quando se administra uma aplicação de prostaglandina a porcentagem de animais que apresentam manifestações de estro dentro de 3 a 4 dias é de 60-70%. Já quando são realizadas duas aplicações com intervalo de 9 a 12 dias, 100% dos animais apresentam estro. O intervalo entre a administração da PGF2 α e o início do estro tem sido bastante variado, devido ao estágio de desenvolvimento folicular de quando a luteólise é induzida (RUBIANES et al., 2000).

2.6.4.2.2 Progestágenos

A precisa sincronização do ciclo estral em ovelhas ou a indução do estro em ovelhas em anestro estacional tem sido realizada com o uso de esponjas intravaginal de alta densidade com um cordão de 15 centímetros de comprimento amarrado em cruz para facilitar a retirada, impregnada com progestágenos este são análogos sintéticos da progesterona (acetato de medroxiprogesterona MAP, acetato de fluorogestona, FGA ou acetato de melengestrol MGA) por 12 a 14 dias, seguido de gonadotrofina sérica de égua prenha (PMSG - eCG) (BOLAND et al.,1981; SMITH et al., 1981). A associação de progestágenos com a eCG, interfere no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e nos mecanismos regulatórios intraovarianos, em função da sua vida média longa e da sua atividade semelhante ao hormônio foliculo - estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH).

A colocação de implante vaginal deve ser feita com cuidado de higiene com o material (especulo), aplicação de antibióticos (ampicilina, oxitetraciclina, estreptomicina, etc.) para redução da fauna saprófita vaginal dos animais evitando o mau cheiro e a produção de secreção excessiva (AISEN, 2008).

Cerca de 90% das fêmeas apresentam estro em até quatro dias depois da retirada do implante, e, no caso de não terem sido fecundadas no primeiro serviço, apresentam novo cio após 16 a 20 dias (MORAES et al. 2002).



Figura 9. Esponja intravaginal de alta densidade com um cordão de 15 centímetros de comprimento amarrado em cruz para facilitar a retirada, impregnada com progestágenos, com aplicação de antibiótico (oxitetraciclina).

Fonte: LUCENA, JOSÈ AILTON DE OLIVEIRA.

2.6.5 Técnicas de inseminação

Qualquer que seja a técnica utilizada, a determinação do momento da ovulação é crucial para o sucesso da inseminação, pois o óvulo tem duração de 12 a 24 horas. No entanto, o objetivo em todas as técnicas do programa é depositar os espermatozóides no aparelho genital da fêmea, no local e no momento mais conveniente para que estes cheguem ao oviduto e fecunde o oócito presente (AISEN, 2008).

A determinação crucial do momento da ovulação é a opção por determinada técnica de sincronização ou utilização de cio natural, a técnica usada, o tipo de sêmen e a manipulação dos animais (tabela 3) (AISEN, 2008).

Nos pequenos ruminantes existem quatro métodos de inseminação artificial: vaginal, cervical supervicial, intracervical, intra-uterina (transcervical e laparoscópica) (HAFEZ, 2004).

O local onde será realizado a inseminação deverá está, limpo, tranquilo, seguro, coberto e abrigado do vento, das temperaturas tanto baixas como altas e da luz solar direta, de forma a minimizar as situações de estresse. Todo material deve ser colocado em lugar inacessível aos animais (SIMÕES et al. 2008). Segundo Gibbons; Cueto (2002), o local onde será realizada a inseminação deve esta em uma temperatura entre 20 a 25°C.

Tabela 3. Tempo de inseminação em ovelhas de acordo com o tipo de estro e a técnica de inseminação.

Tipo de estro	Técnicas de inseminação	Momento da inseminação
Natural	Cervical ou vaginal	12 a 18 hs após o estro
Sincronização com progestágeno	Cervical ou vaginal	48 a 58 hs após a retirada do pessário I.A simples: 48 a 50 hs após a retirada do implante vaginal I.A dupla: 48 a 50 hs e 58 a 60 hs após a retirada do implante vaginal
	Intra-uterino	60 a 66 hs após a retirada do implante vaginal

Fonte: Bettencourt (1999).

2.6.5.1 Método vaginal

O método vaginal é uma técnica simples, rápida e consiste na deposição do sêmen na vagina da fêmea o mais profundo possível, sem a preocupação de localizar a cérvix, esse método é conhecido como “tiro no escuro”. Requer pouco treinamento, utiliza-se sêmen fresco ou frêsko diluído. Segundo Evans; Maxwell, (1987) citado por Bettencourt, (1999), acredita-se que o número máximo de espermatozóides pode ser encontrado no oviduto de 12 a 24 horas depois da inseminação.

Técnica:

- Contenção da fêmea em estação (pode ser no curral);
- Identifica o animal;
- Limpeza da vulva (evitar veicular contaminação para a vagina);
- Abertura manual da vagina e colocação do instrumental (pipeta), aproximadamente 13 centímetros e deposição do sêmen. Segundo Bruckrell, et al. (1991) utilizando-se 200 milhões a 400 milhões de espermatozóides/ mL, o índice de concepção esperado é de 40% a 65%.
- Retirada e limpeza da pipeta;
- Liberação do animal;
- Registro nas planilhas.

2.6.5.2 Método cervical superficial

A deposição cervical superficial requer um menor número de espermatozóides que o método vaginal quando se utiliza sêmen fresco (100-150 milhões de espermatozóides) e é realizado com o uso de um vaginoscópio ou espéculo. A fêmea pode ser colocada com a cabeça para baixo e oblíquo (método “sobre barra”), colocando sua parte posterior sobre a barra do curral, ou cavalete (contendo o quarto traseiro sobre estes) ou então elevando trem posterior quando a fêmea está contida em tronco de ordenha. Pode-se também mantê-la em estação, em frente a uma porteira ao nível do piso (nesse caso o operador ficará em um fosso), ou contra a cerca (AISEN, 2008). É um método relativamente rápido, de fácil aplicação, com custos relativamente baixo e eficaz a nível de campo (FERRA, 2004).

Técnica (Figura 10):

- Contenção da fêmea em estação (pode ser no curral);

- Identificação do animal;
- Lubrificação do vaginoscópio / espéculo, com vaselina ou glicerina;
- Abertura manual da vagina e colocação do vaginoscópio: introduzir o espéculo com cuidado na vulva, sem forçar. Dirigir o feixe de luz até o teto e fundo da vagina. Manter paralelamente a coluna vertebral.
- Localização do orifício externo do colo uterino.
- Introdução da pipeta/ seringa de inseminação dentro do orifício e ou entre as pregas cervicais.
- Recuar ligeiramente o espéculo para permitir o fechamento interno da vaginal e empurrar o êmbolo para uma deposição lenta do sêmen;
- Retirada do aplicador e do vaginoscópio, limpando e desinfetando o instrumental.
- Liberação do animal em um lugar tranquilo e calmo;
- Registro em planilha.



Figura 10. Inseminação artificial cervical superficial.

Fonte: PEÑA.-ALFARO, CARLOS ENRIQUE .

2.6.5.3 Inseminação intracervical

Esse método é semelhante ao da inseminação cervical superficial. Os animais são colocados de cabeça inclinada para baixo, com os membros posteriores levantados (GIBBONS, et al. 2002). Tenta-se penetrar parcialmente os primeiros anéis cervicais, depositando ali os espermatozóides.

Utiliza sêmen fresco ou diluído, sendo esta a via mais empregada em ovinos (GONÇALVES, et al. 2008). Quanto mais profundo, maiores serão as possibilidades de êxito. Não obstante, o dano que pode ocasionar à mucosa cervical influencia negativamente a sobrevivência dos espermatozóides.

Nesse método os resultados são bastante satisfatório, semelhantes ou superiores a monta natural. No caso específico do sêmen congelado, os resultados dependem do número de espermatozóides viáveis que conseguem atingir o local da fecundação. Os resultados de prenhez obtidos em ovinos são muito variáveis e aquém do desejável, oscilam entre 0 e 40%. Alguns resultados acima desse pode ser obtido esporadicamente (SALAMON; MAXWELL, 1995).

A técnica é similar à inseminação cervical superficial, porém deverá ter cuidado em não exercer muita pressão, afim de não lacerar a mucosa da cérvix (AISEN, 2008).

2.6.5.4 Inseminação artificial transcervical

Essa técnica permite, passando através da cérvix, depositar o sêmen dentro da luz uterina, com maior êxito que I.A intracervical. Segundo Gonçalves, et al., (2008) a deposição uterina transcervical é um procedimento cujos índices de concepção são pouco melhores em relação aos obtidos pela simples deposição cervical.

No método da inseminação transcervical faz necessário seguir uma seqüência de procedimentos, pois em algumas ovelhas não é possível transpor a cérvix, exigindo mais tempo e trabalho por animal (AISEN, 2008). Com a fêmea deitada sobre a maca, localiza-se o colo uterino com ajuda de um espelho e aproxima-se da vulva com pinça de aproximadamente 25 centímetros de comprimento, para depois tentar a penetração do colo, introduz o aplicador, retira o mandril guia, introduzindo a paleta de sêmen com auxílio do êmbolo, aplica a quantidade de sêmen contida na paleta, retira o aplicador expensor, a pinça e por fim, promover uma massagem no clitóris (ASSUMÇÃO, 2007).

Nos ovinos há grande dificuldade para transpor a cérvix ovino devido às particularidades morfofisiológicas que a cérvix apresenta, portanto pode-se usar de três métodos para reduzir os efeitos da morfologia cervical, que são:

- Físico: prender com uma pinça hemostática a parte externa da cérvix e tracioná-la para alinhar o canal cervical e diminuir as obstruções para chegar ao lúmen uterino.
- Químico: dilatando a cérvix com PGE₂, ocitocina ou outras drogas.
- Mecânico: utilizando um equipamento para inseminação artificial e transferência de embrião transcervical apropriado para vencer as dificuldades físicas relacionadas à cérvix ovina (HAFEZ, 2004; WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

Técnica:

- Colocação da fêmea em uma maca de contenção, em decúbito dorsal;
- Introdução do espelho vaginal e localização do colo uterino;
- Preensão do colo uterino com um par de pinças de Bonzeman ou de Allys e tração até a vulva, para localizar o canal cervical (figura 11);
- Penetração do canal, passagem pelos anéis chegando até a luz uterina.
- Deposição do sêmen;
- Retirada do instrumental;
- Massagem clitorreânea;
- Liberação do animal;
- Registro nas planilhas.

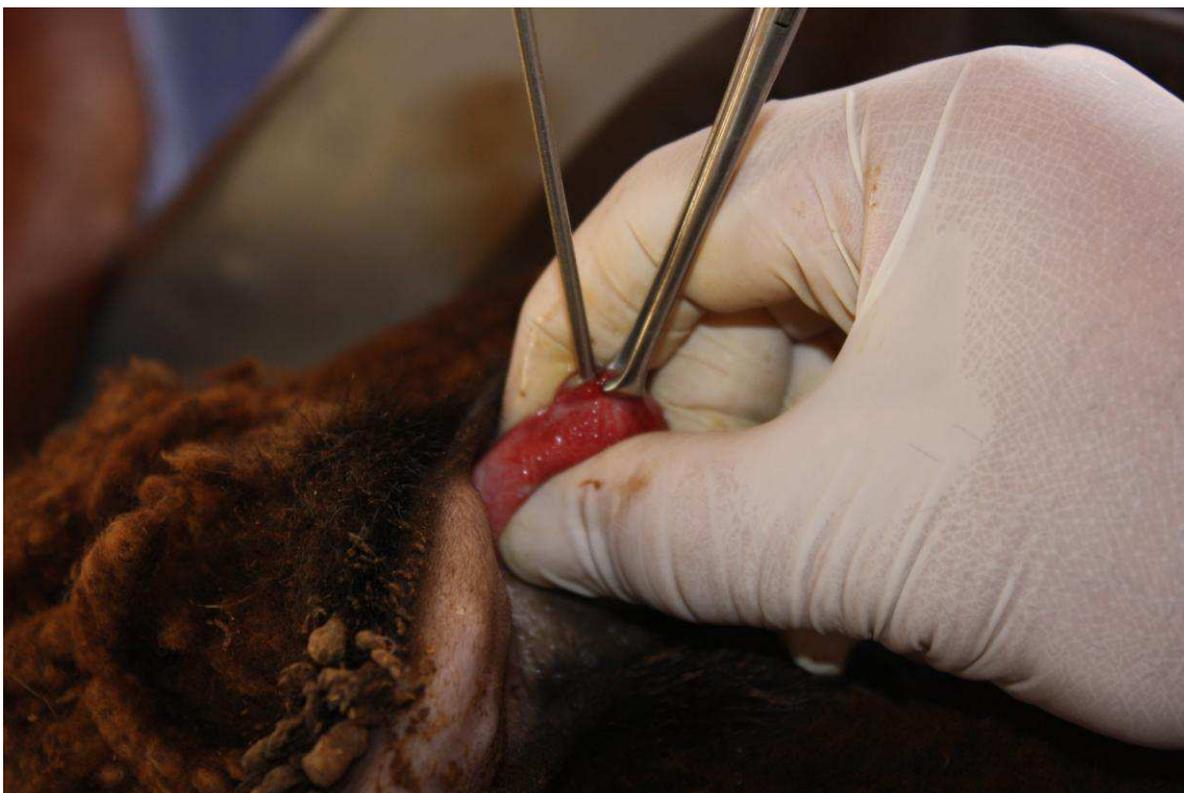


Figura 11. Inseminação artificial transcervical.

Fonte: LUCENA, JOSÈ AILTON DE OLIVEIRA.

2.6.5.5 Laparoscópica

A inseminação laparoscópica é um procedimento cirúrgico, exige a utilização de um laparoscópio (figura 12.) e um veterinário bem treinado. Nesta técnica o sêmen é depositado no lúmen dos dois cornos uterino, evitando a barreira representada pelo colo do útero, permitindo assim a utilização de um menor número de espermatozóides. A laparoscopia viabiliza a aplicação do sêmen congelado, apresentando uma taxa de concepção de 65 a 80% (AX et al, 2004). Esta técnica é praticada apenas por médico veterinário.

O uso do laparoscópio tornou viável a utilização do sêmen congelado, proporcionando a obtenção de taxas de prenhez satisfatórias ($\pm 60\%$), sendo recomendado, mundialmente, ao se utilizar o sêmen congelado (TRALDI, 2006). O local de deposição do sêmen congelado é diretamente proporcional à taxa de fecundação. 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). Assim, quando se utiliza sêmen congelado uma maior taxa de fecundação é obtida com a inseminação artificial por laparoscopia, em relação a inseminação artificial transcervical (WULSTER-RADCLIFFE; LEWIS, 2002; WULSTER-RADCLIFFE; WANG; LEWIS, 2004). As técnicas atuais recomendam inseminar a metade da dose total na região média de cada corno uterino durante o procedimento de laparoscopia (EVANS; MAXWELL, 1987). Este procedimento tem por base as observações de Killen; Caffery (1982), que relataram uma maior taxa de prenhez para as ovelhas inseminadas em ambos os cornos.

O número de espermatozóides necessário é baixo (10 a 50 milhões) e os resultados de fertilidade são bons. Sua implementação é onerosa e nem sempre é possível seu uso a campo (AISEN, 2008).

Para realização da laparoscopia, a fêmea é colocada em uma cama específica com a região da linha alba próxima ao úbere tricotomizada e realizada assepsia. É conveniente jejum alimentar de horas e o jejum hídrico de 12 horas antes do procedimento, reduzindo assim os conteúdos do rúmen e bexiga. A cama é levantada para uma angulação de aproximadamente 45°. A parede abdominal é penetrada com dois trocâteres para colocação da cânula e do laparoscópio na cavidade abdominal. O endoscópio é um aparelho de fibra óptica que possibilita a visão do trato reprodutivo das fêmeas facilitando o procedimento. A cavidade abdominal é inflada com uma pequena quantidade de dióxido de carbono (CO₂) para facilitar a visualização do útero e dos demais órgãos da cavidade. Uma pinça manipuladora é utilizada para a inseminação, o sêmen é depositado. Quanto menor a manipulação uterina maior a taxa de concepção. O depósito do sêmen é realizado diretamente no lúmen de ambos cornos uterinos. O tempo de procedimento dura de dois a cinco minutos, dependendo da experiência do técnico (AISEN, 2008).

Técnica:

- Preparação da fêmea com jejum de alimento sólido de 24 horas e líquido de 12 horas;
- Colocação da fêmea em decúbito dorsal (cabeça na posição inferior) em uma maca de contenção reclinável (40° ou mais).
- Tricotomizar a área abdominal à frente do úbere (um palmo). Essa manobra pode ser realizada com antecedência;
- Higienização da área tricotomizada;

- Aplicação de anti-séptico sobre a pele abdominal (figura 13.) (iodados, clorexidina, etc.);
- Inserção de um trocarte (1ª via), perfurando a parede abdominal e o omento maior, chegando a cavidade abdominal;
- Insuflar ar estéril ou CO₂;
- Introdução do laparoscópio e localização dos cornos uterinos;
- Inserção de um segundo corte trocarte (2ª via), no lado oposto;
- Por essa via paralela realiza-se a introdução de um aplicador de inseminação (figura 14.) (esse instrumento serve também como manipulador, a fim de retirar do campo visual o omento e outros tecidos, ou também para reposicionar o útero);
- Mediante a exposição da agulha desse instrumental, e com movimento rápido, perfura-se a parede uterina (90°), certificando-se de que o instrumento se encontra dentro da luz do corno uterino;
- Deposita-se a dose de sêmen correspondente;
- Repete-se a operação no outro corno;
- Retirada do instrumental e liberação do gás da cavidade abdominal;
- Colocação do anti-séptico/ repelente;
- Liberação do animal;
- Registro em planilha.

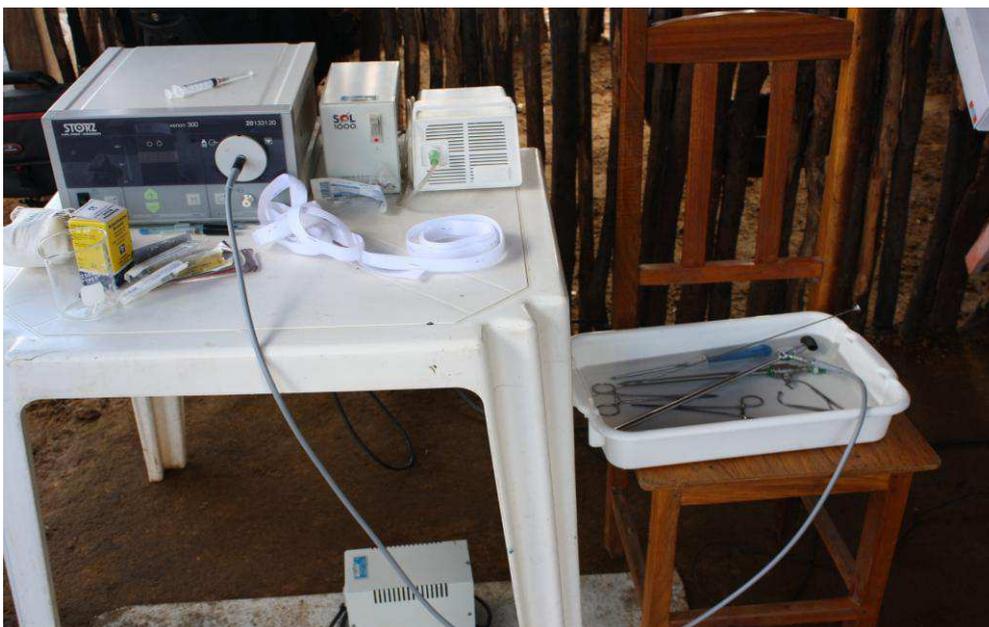


Figura 12. Aparelho laparoscópico.

Fonte: LUCENA, JOSÈ AILTON DE OLIVEIRA.



Figura 13. Animal contido e devidamente tricotomizado para se realizar a laparoscopia.

Fonte: LUCENA, JOSÈ AILTON DE OLIVEIRA.



Figura 14. Método de inseminação artificial por laparoscopia. Posicionamento dos dois trocartes, nos quais foram posicionadas a óptica e a pinça de manipulação uterina ou aplicador de sêmen.

Fonte: LUCENA, JOSÈ AILTON DE OLIVEIRA.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre as biotécnicas da reprodução na espécie ovina, a inseminação artificial é a mais acessível para os pequenos e médios produtores, permite conseguir um potencial da espécie, além de maximizar a utilização de reprodutores de alto mérito genético promovendo adequação ao seu valor econômico.

Apesar de ser uma biotécnica acessível, ainda na região nordeste essa que detém a maior parte do rebanho ovino nacional, a maioria dos animais apresenta baixa produtividade, devido entre outros fatores, a limitação genética. Então neste sentido a inseminação artificial, se constitui de um instrumento rápido e seguro para promoção do melhoramento genético desses animais. Vale salientar que o método de inseminação no qual o produtor possa lançar mão na sua propriedade deverá ser um método simples, econômico e rápido.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- AISEN, EDUARDO G. **Reprodução ovina e caprina**. 1ª ed. – São Paulo: MedVet, 2008.
- 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
- ASSUMÇÃO, A.C. **Inseminação artificial transcervical em ovinos Santa Inês**. Assit 2007, I Simpósio brasileiro de reprodução assistida em caprinos e ovinos. Gravatá, p. 1-14, 2007.
- A.X, R.L.; DALLY, M.R.; DIDION, B.A.; LENZ, R.W.; LOVE, C.C.; VARNER, D.D.; HAFEZ, B.; BELLIN, M.E.; inseminação artificial. In: Hafez, E.S.E.; Hafez, B. (ed). **Reprodução Animal**. 7º ed, Barueri: Manole, p. 381-394, 2004.
- BETTENCOURT, E.M.V. **Caracterização de parâmetros reprodutivos nas raças ovinos merina branca e campaniça**. 1999, 126f. dissertação (mestrado em produção animal) – universidade técnica de Lisboa, faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 1999.
- BETINI, C.M.; MORAES, G.V.; RIGOLON. Efeito da congelação vertical e horizontal na qualidade do sêmen caprino. **Acta Scientiarum**, v. 20, n. 3, p. 361-5, 1998.
- BLUME, H.; MARQUES JR., A.P.V. Avaliação da água de coco no cultivo e criopreservação de embriões murídeos. **Ver. Reprod. Animal**, v. 18, p. 97 – 104, 1994.
- BOLAND, M.P.; CROSBY, T.F.; GORDON, I. **Induction of pregnancy anoestus ewes**. J. Agric. Sci.(Camb), v.97, p. 465-467, 1981
- BORGES, I. Manejo da ovelha gestante e sua importância na criação do cordeiro, In: I ENCONTRO MINEIRO DE OVINOCULTURA, **Anais...** Lavras: UFLA, p. 106-128, 2000.
- BRUCKRELL, B.C.; HALBERT, G.W.; GARTLEY, C.J.; BRETZLAFF, K.N. Artificial insemination of small ruminants. **Theriogenology**, New York, v. 10, p. 87-91, 1991.
- COLAS, G.; COUROT, M. storage of ram semen. In: TOMAS, G.I; ROBERTSON, D.E.; LIGHTFOOT, R.J. **sheep breeding**. 2º ed. London: Butterworths, p. 521- 32, 1976.

CORTELL, J.M. **Involvement of seminal plasma in goat sperm preservation.** In: international conference on goats, 1992, New Delhi. Proceedings of II international conference on goats, p. 290 – 297, 1992.

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. Salamon' s Artificial insemination of sheep and Goats. **Butterworths**, Sydney, p. 158-159, 1987.

EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. **Inseminação artificial em ovelhas y cabras.** España: Zaragoza, p. 192, 1990.

EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. **Inseminação artificial em ovelhas y cabras.** Editorial Acribia S.A. Zaragoza, 1990.

FERRA, J.C.; SERENO, J.R.B. Inseminação artificial em ovinos. Embrapa cerrado, Planaltina, v. 1, n°. 1, p. 26, maio, 2006.

FREITAS, J.V.F.; TEIXEIRA, DIA.; LOPES-JUNIOR, E.S.; PAULA, N.R.O.; ALMEIDA, A.P. **Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos.** Do campus para o campo: Tecnologia para produção de ovinos e caprinos, 1ª ed. Fortaleza: Gráfica Nacional, p. 241-263, 2005.

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.

GIBBSONS, ALEJANDRO; CUETO, MARCELA. **Manual de inseminacion artificial em la espécie ovina.** Bariloche, 2002.

GIL, J.; RODRIGUES-IRAZOQUI, M.; LUNDEHEIM, N.; SÖDERQUIST, L.; RODRIGUEZ MARTINES, H. Fertility of ram sêmen frozen in bioexcell and used for cervical artificial insemination. **Theriogenology**, v. 59, p. 1157-1170, 2003.

GONÇALVES, PAULO B. DIAS; FIGUEIREDO, JOSÉ RICARDO; FREITAS, VICENTE JOSÉ DE F. **Biotécnica aplicada à reprodução animal.** São Paulo: Varela, p. 15-23; 57-65; 111-23, cap. 2, 4 e 7, 2001.

GONÇALVES, PAULO BAYARD DIAS, et al. **Biotécnicas aplicada a reprodução animal:** Inseminação artificial em pequenos ruminantes, 2ª ed. São Paulo: Roca, p.83-101, 2008.

GONZALEZ, C.I.; SOARES, A.T.; CUNHA, M. DAS G.G.; SOUSA, W.H. **Reprodução assistida em caprinos: inseminação artificial**. João Pessoa: EMEPA-PB, p. 42, il.(EMEPA-PB, documnetos,39), 2002.

HAFEZ, E.S.E. **Reproduction in farm animal**. 7^a ed. Philadelphia: Lea & Febirg, p. 573, 1995.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7^a ed. Editora: Manole, 2004.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. Avaliação do sêmen, 7^a ed. Editora: Manole, p. 373, 2004

HALBERT, G.W.; DOBSON, H.; WALTON, J.S. et al. The structure of cervical canal of the ewe. **Theriogenology**, v. 33, p. 977-992, 1990.

HOLT, W.V. fundamental aspects of sperm cryobiology the importance of species and individual differences. **Theriogenology**, v. 53, p. 47 – 58, 2000.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. Disponível em: < [http:// www.sidra.ibge.gov.br/ bda/pecuadefault.asp](http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecuadefault.asp).02maio.2009 >, acesso em: 2 de julho de 2010.

INTERVET. **Compedium of animal reproduction**. 8^a ed.[S.I.], 2003.

LOPES-JUNIOR, E.S.; RONDINA, D.; SIMPLÍCIO, A.A.; FREITAS, V.J.F. **Oestrus behaviour and performance in vivo of Saanen goats raised in northeast of Brazil**. Livestock Research for Rural Development, v. 13, p. 1-10, 2001.

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.

KILLEN, I.D.; CAFFERY, G.I. uterine insemination of ewes white the aid of a laparoscope. **Australian Veterinary Journal**, v. 59, p. 95, 1982.

LIMA, ANTONIO JOSÉ. **O método da inseminação artificial é muito antigo e existem relatos desde o século XIV**. Disponível em: < <http://www.serratalhada.net/meioambiente/mostra.asp?noticia=noticia22.asp> >, acesso em: 28 de julho de 2010.

MARQUES, A.L.V. **A água-de-coco**. Fortaleza: Sociedade Cearense de Ginecologia e Obstetrícia (SOCEGO. Informativo, n. 92), 1982.

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.; 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).

MAXWELL, W.M.C.; SALAMON, S. Liquid storage of ram semen: **Review. Reprod. Fertil. Dev.**, collingwood, v. 5, p. 613 – 638, 1993.

MIES FILHO, ANTONIO. **Reprodução dos animais e inseminação artificial**. 3^a ed. Porto Alegre: Sulina, p. 337-344, 1975.

MORAES, J.C.F. **O emprego da inseminação artificial nas ovelhas**. Bagé: Embrapa Pecuária Sul, 5p. (Embrapa Pecuária Sul. Circular Técnica, 25), 2002.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas a reprodução animal**. São Paulo: Livraria Varela, 340p. 2002.

NUNES, J.F. Inseminação artificial em caprinos. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas a reprodução animal**. São Paulo: Livraria Varela, 340p. 2002.

NUNES J.F. et al. **Utilização da água de coco como diluidor do sêmen de caprinos e ovinos**. Revista Científica de Produção Animal, 1:17-26, 1999.

PILAR, R.C. Manejo e técnicas para obtenção de um parto a cada oito meses. In: I REUNIÃO TÉCNICO-CIÊNTEFICO SOBRE OVINO-CAPRINOCULTURA, UESB, Itapetinga, 3 a 7 de maio de 2004. **Anais....** Itapetinga, 2004.

PINEDA, M.H. Reproductive Patterns of sheep and goat. In: mc donald, I.e. (ed) **Veterinary endocrinology and reproduction**. 4^a ed. Philadelphia, Lea & Fabiger, p. 428 – 447, 1989

RIBEIRO, S.D.A. **Caprinocultura: Criação racional de caprinos**. São Paulo: Nobel, p. 180 – 189, 1997.

ROBERTSON, H.A La reproducción em las ovejas y en las cabras. In: **Reproducción De Los Animales Domésticos**. Zaragoza, ed. Acribia, p. 407 – 425, 1984.

ROBERTSON, L.; WATSON, P.F. The effect of egg yolk on the control of intracellular calcium in ram spermatozoa cooled and stored at 5°C. **Anim. Reprod. Sci.** V. 15, n 3-4, p. 177 – 87, 1987.

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

SALOMON, S.; MAXWELL, W.M.C. Storage of ram semen. **Animal reproduction Science**, v. 62, p. 77 – 111, 2000.

SALOMON, S.; MAXWELL, W.M.C. Franzem storage of ram sêmen I processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. **Animal reproduction Science**, Amsterdam, v. 37, p.1 – 36, 1995.

SALOMON, S.; MAXWELL, W.M.C. Franzem storage of ram sêmen I processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. **Animal reproduction Science**, Amsterdam, v. 37, p.185 – 249, 1995.

SIMÕES, J.; BARIL, G.; ALMEIDA, J.C.; AZEVEDO, J.; FONTES, P.; MASCARENHAS, R. Time of ovulation in nulliparous and multiparous goats. **Animal, in press**. 2008.

SMITH, P.A.; BOLAND, M.P.; GORDON, I. **Effect of type of intravaginal progestagen on the outcome of fixed – time artificial insemination**. J. Agric. Sci. (Camb), v. 96, p.243 – 245, 1981.

SOARES, ADRIANA TRINDADE et al. **Recomendações Técnicas Para Produção De Caprinos e Ovinos**. Tecno.& ciênc. Agropec. João Pessoa – PB, v.1, n. 2, p.45-51, dez. 2007.

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.

TORRES, A. P. **Melhoramento dos rebanhos**. 4ª ed. São Paulo: Nobel p. 104 – 105, 1986.

TRALDI, A.S. **Biotécnicas aplicadas em reprodução de pequenos ruminantes**. III FEICO, São Paulo, 11p. 2006.

WATSON, P.F. Recent development and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. **Journal of reproduction and fertility**, v. 7, p. 871 – 891, 1995.

WULSTER – RADICLIFFE, 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 sêmen quality and fertility. **Theriogenology**. v. 58, p. 1361 – 1371, 2002.

WULSTER – RADICLIFFE, M.C.; WANG, S.; LEWIS, G.S. transcervical artificial insemination in sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rates. **Theriogenology**, v. 62, p. 990 – 1002, 2004.

YANAGIMACHI, R. Mammalian fertilization. In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. **The physiology of Reproduction**. New York: Raven Press, p. 189 – 317, 1994.