

**CONTROLO REPRODUTIVO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL CERVICAL COM SÉMEN  
REFRIGERADO EM OVELHAS DA RAÇA CHURRA GALEGA BRAGANÇANA.  
*Efeitos da dose de eCG e do tempo de preservação do sémen diluído.***

**Samanta Aparecida Meireles**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para  
obtenção do Grau de Mestre em Tecnologias da Ciência Animal no âmbito  
da dupla diplomação com o Instituto Federal de Educação, Ciência e  
Tecnologia Sul de Minas Gerais (Campus de Machado)*

Orientado por

**Ramiro Corujeira Valentim**

**Daiane Moreira Silva**

Esta dissertação não inclui as críticas e sugestões feitas pelo Júri

**Bragança  
2025**

As opiniões e informações incluídas neste documento representam unicamente o ponto de vista do respectivo Autor, não podendo o Editor aceitar qualquer responsabilidade legal ou outra em relação a erros ou omissões que possam existir.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus e Nossa Senhora Aparecida, por me conceder força, saúde e sabedoria ao longo desta caminhada. Sem Suas presenças constantes, nada disso teria sido possível.

À minha família Assis, Meireles e Juvêncio, meu alicerce, agradeço por todo o amor, apoio e incentivo incondicional. Em especial, aos meus pais Wagner Wilson Meireles e Sueli Aparecida de Assis, que sempre acreditaram no meu potencial e me ensinaram o valor da dedicação, esforço, humildade e respeito. Aos meus irmãos, por estarem sempre ao meu lado, aos meus avós que sempre estiveram presentes e me apoiando em todas as minhas decisões. Aos meus tios e tias que estiveram do meu lado, me dando força e incentivo para continuar a caminhada nos estudos. Aos meus primos e primas, sobrinhos e afilhados que sempre torceram por mim.

A minha orientadora Professora Doutora Daiane Moreira Silva que me forneceu esta oportunidade, junto com o Instituto Federal do Sul de Minas Campus Machado e o Instituto Politécnico de Bragança. Sem a senhora nada disso teria acontecido, minha eterna gratidão por ser essa mãe, professora e orientadora excelente que é. Obrigada por todo carinho, todos os puxões de orelhas, todos os concelhos e por toda consideração.

Ao meu orientador Professor Doutor Ramiro Corujeira Valentim agradeço por todas as conversas, por toda a ajuda durante este um ano de mestrado, por todos os concelhos, risadas, momentos, todos os maneios que realizamos durante este período e todo aprendizado que pude obter. Gratidão por tudo e por ser um pouquinho da minha família aqui em Portugal.

Aos envolvidos no Centro Pedagógico Veterinário, Professor Doutor Hélder Quintas, Liliana Santos e Maria João Carvalho, agradeço por todo apoio, paciência e confiança que tiveram em meu trabalho. Obrigada por toda a ajuda durante este ano.

À professora Doutora Filipa Rodrigues, o meu agradecimento por confiar suas pesquisas e deixar em minha mão, por ter tido paciência para explicar e traduzir os artigos sobre parasitologia, por todos os momentos que tivemos e gratidão por tudo.

A Professora Doutora Teresa Montenegro Correia, meus agradecimentos por todo aprendizado no laboratório, pela paciência de explicar cada protocolo que iríamos utilizar nas aulas. Obrigada por todo conhecido passado a mim.

Aos meus amigos, que foram apoio, refúgio e inspiração. Obrigada pelas palavras de encorajamento, pelas conversas nos momentos de cansaço e pelas risadas que tornaram essa jornada mais leve e significativa.

Aos tratadores e ao engenheiro João David do Instituto Politécnico de Bragança, meus sinceros agradecimentos. Obrigada por me ajudar nos maneios, por serem bons parceiros de

conversas, e por estarem sempre disponíveis para me ajudar. Que Deus abençoe muito vocês e dê muita saúde para todos.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste sonho, deixo aqui o meu mais profundo agradecimento.

## RESUMO

Este trabalho teve como principal objetivo estudar os efeitos de duas doses diferentes de eCG (500 UI vs. 400 UI) no controlo reprodutivo e do tempo de preservação do sémen diluído refrigerado (3 dias, 2 dias, 1 dia, 0 dias) sobre a taxa de fertilidade pós-inseminação artificial cervical de ovelhas da raça Churra Galega Bragançana (CGB).

Este trabalho teve início no dia 1 abril de 2024 e envolveu 79 ovelhas e 2 carneiros da raça CGB. Antes da aplicação dos tratamentos hormonais procedeu-se à recolha de amostras de sangue, para posterior avaliação do estado fisiológico inicial das ovelhas estudadas. No dia 11 de abril, todas as ovelhas receberam uma esponja vaginal impregnada com acetato de fluorogestona (FGA) e uma administração de 100 µg de Cloprostenol. Seis dias depois removeram-se as esponjas vaginais. Na mesma altura, a 40 ovelhas foram administradas 400 UI de Gonadotropina Coriónica equina (eCG) e às restantes 39 ovelhas foram administradas 500 UI da mesma hormona. Os ejaculados foram recolhidos por eletroejaculação, 3, 2 e 1 dia antes e no dia da inseminação artificial (IA). As análises seminais foram realizadas com o auxílio de um sistema CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*) da Minitube. O sémen recolhido 3, 2, 1 dia antes da IA foram preservados a 5°C. O sémen recolhido no dia da IA foi preservado a 15°C até ao momento da IA. Cada dose seminal continha cerca de  $200 \times 10^6$  espermatozóides (SPZ). A IA foi realizada 55 horas depois da administração de eCG. O diagnóstico de gestação foi realizado 41 dias pós-IA.

Quando se deu início a este trabalho, as ovelhas estavam todas cíclicas. Os carneiros dadores de sémen afetaram a taxa de fertilidade (A: 83,3% vs. B: 95,3%). Quarenta e um dias pós-IA, 89,9% das ovelhas estavam gestantes. As ovelhas tratadas com 400 UI de eCG apresentaram uma taxa de fertilidade superior à das tratadas com 500 UI (400 UI: 95,0% vs. 500 UI: 84,6%). O tempo de refrigeração também condicionou a taxa de fertilidade. Esta foi menor quando foi utilizado sémen recolhido 3 dias antes e no dia da IA (D<sub>-3</sub>: 85,7% vs. D<sub>-2</sub>: 100% vs. D<sub>-1</sub>: 100% vs. D<sub>0</sub>: 72,2%). Na maioria das ovelhas, o sémen foi depositado no cérvix (98,7%) e o refluxo cervical ou não existiu ou foi ligeiro (Sem: 46,8% vs. Ligeiro: 53,2%). O refluxo cervical ligeiro não influenciou a taxa de fertilidade (Sem: 94,6% vs. Ligeiro: 87,8%).

**Palavras chaves:** Churra Galega Bragançana, dose de eCG, sémen refrigerado, tempo de preservação, inseminação artificial cervical, taxa de fertilidade.

## ABSTRACT

The main aim of this research was to investigate the effects of two distinct doses of eCG (500 IU versus 400 IU) on the hormonal reproductive control and the storage time of cooled diluted semen (3 days, 2 days, 1 day, 0 days) related to the fertility rate after cervical artificial insemination of Churra Galega Bragançana (CGB) ewes.

This research started in April 2024 and included 79 ewes and two CGB breed rams. Before the hormonal treatments, blood samples were taken to assess the initial physiological condition of all ewes. On April 11, all ewes received a vaginal sponge impregnated with FGA and 100 mg of Cloprostenol. The vaginal sponges were withdrawn six days afterward. At the same time, 40 ewes were administered 400 IU of eCG, whereas the other 39 were given 500 IU of that hormone. Ejaculates were collected via electroejaculation 3, 2, and 1 day before and on the day of artificial insemination (AI). A CASA system provided by Minitube was used for seminal analyses. Every seminal dose included roughly  $200 \times 10^6$  spermatozoa. Semen collected 3, 2, and 1 day before AI was stored at 5°C. Semen collected on the day of AI was stored at 15°C. AI took place 55 hours following the administration of eCG. Pregnancy was diagnosed 41 days after AI.

Initially, all ewes were cycling. Semen donors influence the fertility rate. Forty-one days after AI, 89.9% of the ewes were pregnant. Ewes administered 400 IU of eCG exhibited a higher fertility rate than those given 500 IU (400 UI: 95.0% versus 500 UI: 84.6%). The storage time of cooled semen also affected the fertility rate. The fertility rate decreased following AI when semen was collected 3 days before and on the day of AI (D<sub>-3</sub>: 85.7% versus D<sub>-2</sub>: 100% versus D<sub>-1</sub>: 100% versus D<sub>0</sub>: 72.2%). In the majority of ewes, the semen was released in the cervix (98.7%). Cervical reflux was either not present or slight (Not present: 46.8% versus Slight: 53.2%). Cervical reflux did not affect the fertility rate (Not present: 94.6% vs. Slight: 87.8%).

**Keywords:** Churra Galega Bragançana, eCG doses, cooled semen, cooling time, cervical artificial insemination, fertility rate.

## Índice Geral

Agradecimentos .....	i
Resumo.....	iii
Abstract .....	iv
Índice de Figuras .....	viii
Índice de Quadros .....	ix
Lista de Siglas e Abreviaturas .....	x
I – Revisão Bibliográfica.....	1
1. Introdução .....	1
1.1. Controlo Reprodutivo.....	2
1.1.1. Tratamentos com Progesterona/Progestagénios .....	4
1.1.1.1. Tratamentos Longos com Progesterona/Progestagénios.....	7
1.1.1.2. Tratamentos Curtos com Progesterona/Progestagénios.....	10
1.1.1.3. Comparação entre Tratamentos Longos e Curtos .....	12
1.2. Estimulação da Atividade Ovária.....	14
1.2.1. Ovulação.....	14
1.2.2. Formação do Corpo Lúteo.....	16
1.2.3. Limitações à Estimulação da Atividade Ovária.....	17
1.2.4. eCG .....	17
1.2.4.1. Raça .....	18
1.2.4.2. Idade.....	19
1.2.4.3. Estação Reprodutiva vs. Estação de Anestro .....	19
1.2.4.4. Dose.....	20
1.2.4.5. Momento da Administração de eCG.....	21
1.2.4.6. Duração do Tratamento de Controlo da Atividade Ovária.....	22
1.2.4.7. Consequências da Administração Repetida de eCG .....	23
1.3. Inseminação Artificial .....	23

1.3.1. Sémen Refrigerado.....	23
1.3.1.1. Temperaturas de Preservação do Sémen Diluído.....	24
1.3.1.2. Diluidores Seminais.....	25
1.3.1.3. Proteínas Aglutinantes dos Espermatozóides.....	27
II – Trabalho Experimental.....	30
1. Material e Métodos.....	30
1.1. Animais.....	30
1.2. Avaliação do Estado Fisiológico Inicial.....	30
1.3. Tratamento Aplicado.....	31
1.4. Recolha de Sémen.....	32
1.5. Análises Seminais.....	32
1.6. Doses Seminais.....	33
1.7. Inseminação Artificial a Tempo Fixo.....	34
1.8. Posição das Ovelhas Durante a Inseminação Artificial.....	34
1.9. Diagnóstico de Gestação.....	35
1.10. Análises Estatísticas.....	35
2. Resultados.....	36
2.1. Estado Fisiológico Inicial.....	37
2.2. Características Seminais.....	37
2.3. Taxa de Fertilidade Pós-inseminação Artificial.....	37
3. Discussão.....	39
3.1. Idade.....	39
3.2. Condição Corporal.....	39
3.3. Carneiros.....	40
3.4. Estado Fisiológico Inicial.....	41
3.5. Dose de eCG.....	42
3.6. Tempo de Preservação do Sémen Diluído.....	43

3.7. Local de Deposição da Dose Seminal .....	44
3.8. Refluxo Cervical .....	44
4. Conclusões.....	46
III – Referências Bibliográficas.....	47

## Índice de Figuras

Figura 1 – Danos morfológicos causados pela refrigeração.....	2
Figura 2 – Curva temporal da libertação de progesterona a partir do CIDR e do DICO.....	6
Figura 3 – Variação temporal dos níveis plasmáticos médios de cronolona em ovelhas tratadas com Chronogest CR .....	6
Figura 4 – Cascata de lesões de membrana induzidas pelo choque ao frio, quando o sémen de carneiro é preservado a menos de 18°C .....	26
Figura 5 – Mecanismo de proteção da membrana plasmática dos espermatozoides exercido pelos diluidores à base de gema de ovo e de leite .....	28
Figura 6 – Ovelhas da raça CGB utilizadas no presente estudo .....	30
Figura 7 – Recolha de amostra de sangue por punção da veia jugular (esquerda) e amostra de sangue pós centrifugação (direita) .....	31
Figura 8 – Equipamentos e hormonas utilizadas no último passo do tratamento de controlo reprodutivo.....	32
Figura 9 – Carneiro dador de sémen (esquerda), eletroejacular eProvac (centro) e momento de recolha de um ejaculado (direita) .....	32
Figura 10 – Ejaculados nos tubos graduados de coleta de sémen (esquerda) e imagem da análise seminal efetuada pelo sistema CASA (direita) .....	33
Figura 11 – Banho-maria refrigerado utilizado para refrigerar as amostras de sémen diluídas.....	33
Figura 12 – Inseminação artificial de uma ovelha.....	34
Figura 13 – Posição da ovelha durante a realização da inseminação artificial .....	35
Figura 14 – Realização do diagnóstico de gestação .....	35

## **Índice de Quadros**

Quadro I – Distribuição percentual das ovelhas CGB estudadas segundo três classes de idade.....	36
Quadro II – Condição corporal (CC) das ovelhas CGB segundo as classes de idade consideradas .....	36
Quadro III – Características do sémen produzidos pelos carneiros dadores de sémen .....	37

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% – Percentagem

°C – Graus Celsius

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

BSPs – Proteínas de ligação aos fosfolípidos

c.v. – Coeficiente de variação

CASA – Sistema computadorizado de análises seminais

CC – Condição corporal

CGB – Churra Galega Bragançana

CIDR – Dispositivo Interno de Libertação Controlada de Fármacos

CL – Corpo lúteo

DICO – Dispositivo Intravaginal para Ovinos e Caprinos

E<sub>2</sub> – Estradiol

eCG – Gonadotropina Coriónica equina

ESA – Escola Superior Agrária

EUA – Estados Unidos da América

FGA – Acetato de Fluorogestona

FSH – Hormona Folículo-Estimulante

g – Gramas

GnRH – Hormona Libertadora de Gonadotropinas

hCG – Hormona Coriónica humana

IA – Inseminação artificial

IATF – Inseminação artificial a tempo fixo

IPB – Instituto Politécnico de Bragança

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

LH – Hormona Luteinizante

MAP – Acetato de Medroxiprogesterona

mg – Miligramas

MHz – Megahertz

ml – Mililitros

MOET – Ovulação múltipla e transferência de embriões

n – Tamanho da amostra

ng – Nanogramas

P<sub>4</sub> – Progesterona

PGF<sub>2α</sub> - Prostaglandina F<sub>2α</sub>

pH – Potencial hidrogeniônico

rpm – Rotações por minuto

RIA – Radioimunoensaio

ROS – Espécies reativas de oxigênio

RU – Reino Unido

SPZ – Espermatozóides

UI – Unidades internacionais

χ<sup>2</sup> – Qui quadrado

μg – Microgramas

## I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será feita uma revisão bibliográfica centrada nos principais tópicos abordados no trabalho experimental – controlo reprodutivo com progesterona ( $P_4$ )/progestagénios, promoção da ovulação com eCG e efeitos do tempo de preservação do sémem refrigerado sobre a taxa de fertilidade pós-IA cervical.

### 1. INTRODUÇÃO

A IA é a técnica mais antiga de reprodução assistida (Faigl *et al.*, 2012, Berean *et al.*, 2021 e Siqueira, 2023). Ela foi inicialmente desenvolvida por motivos sanitários (prevenir a difusão de doenças sexual e não sexualmente transmissíveis) (Cseh *et al.*, 2012, Faigl *et al.*, 2012, Mehr *et al.*, 2013, Valentim *et al.*, 2016, Siqueira, 2023, Souza-Fabjan *et al.*, 2023, Bülbül *et al.*, 2024 e Myers e Kasimanickam, 2025). Contudo, os criadores depressa se aperceberam que a sua utilização possibilita a rápida introdução e difusão de genes melhoradores nos seus efetivos (Ponsart *et al.*, 2004, Granados *et al.*, 2006, Cseh *et al.*, 2012, Faigl *et al.*, 2012, Abecia *et al.*, 2017, Fornazari, 2018, Gibbons *et al.*, 2019, González-Bulnes *et al.*, 2020, Berean *et al.*, 2021, Madrigali *et al.*, 2021, Siqueira, 2023, Souza-Fabjan *et al.*, 2023, Bülbül *et al.*, 2024, El Almiri e Rahim, 2024, Myers e Kasimanicham, 2025 e Walker *et al.*, 2025), mesmo de carneiros velhos, feridos ou até mortos (Gibbons *et al.*, 2019 e Souza-Fabjan *et al.*, 2023). A IA permite ainda o uso de sémen de machos geograficamente distantes e a redução do número de machos presentes nas explorações, com claras vantagens económicas (Baril *et al.*, 1993, Haresign, 1993, Chemineau *et al.*, 1996, Salamon e Maxwell, 2000, Aisen, 2004a,b, El-Shahat e Alsafy, 2009, Bucak *et al.*, 2010, Fonseca *et al.*, 2010, Cseh *et al.*, 2012, Konyali *et al.*, 2013, Santolaria *et al.*, 2014, Palacios e Abecia, 2015, Abecia *et al.*, 2016, Valentim *et al.*, 2016, Yotov *et al.*, 2016, Abecia *et al.*, 2017, Banday *et al.*, 2017, Romano *et al.*, 2017, Fornazari, 2018, Siqueira, 2023, El Almiri e Rahim, 2024 e Myers e Kasimanickam, 2025). Por outro lado, a IA facilita o comércio internacional de material genético, dado que mitiga os riscos associados ao trânsito de animais vivos (Souza-Fabjan *et al.*, 2023), permite prevenir a consanguinidade (Saha *et al.*, 2022) e possibilita a preservação de populações animais em risco de extinção (Souza-Fabjan *et al.*, 2023).

O sucesso da IA depende de fatores endógenos (raça, mérito genético, deficiências genéticas, aptidão reprodutiva individual, idade, condição corporal (CC), balanço energético, estado de saúde, entre outros) e exógenos (maneio, condições ambientais, alimentação, controlo da atividade ovárica, colheita, avaliação e preservação do sémen, método de IA) (Bancheva *et al.*, 2021, El Almiri e Rahim, 2024 e Myers e Kasimanickam, 2025). Nas raças

leiteiras francesas, a heritabilidade da fertilidade varia entre 0,001-0,005, nos carneiros, e 0,040-0,079, nas ovelhas (David *et al.*, 2008). Nas ovelhas Latxa Cara Negra, a heritabilidade deste parâmetro é de 0,009, nos carneiros, e de 0,057, nas ovelhas (Pineda-Quiroga *et al.*, 2024). Neste sentido, o melhoramento genético da taxa de fertilidade pós-IA será muito difícil de conseguir (David *et al.*, 2008 e Pineda-Quiroga *et al.*, 2024).

Nos ovinos, as principais limitações à difusão da técnica de IA estão relacionadas com o tamanho das ovelhas, que impedem a palpação retal (Souza-Fabjan *et al.*, 2023 e Myers e Kasimanickam, 2025), a anatomia do canal cervical (Kershaw *et al.*, 2005, Konyali *et al.*, 2013, Sieme *et al.*, 2016, Valentim *et al.*, 2016, Snoeck *et al.*, 2017, Sathe, 2018, Alvarez *et al.*, 2019, Macías *et al.*, 2020, Bashawat *et al.*, 2021, Palacios *et al.*, 2022, Bancheva *et al.*, 2021, Siqueira, 2023, Souza-Fabjan *et al.*, 2023, Bülbül *et al.*, 2024, El Almiri e Rahim, 2024, Rouzrokh *et al.*, 2024, Myers e Kasimanicham, 2025 e Sevilla *et al.*, 2025) e com as dificuldades em refrigerar (Figura 1) (Cseh *et al.*, 2012, Macías *et al.*, 2020, Bancheva *et al.*, 2021 e Bülbül *et al.*, 2024) e criopreservar o sémen diluído (devido à composição fosfolipídica e proteica das membranas) (Cseh *et al.*, 2012, Valentim *et al.*, 2016, Banday *et al.*, 2017, Snoeck *et al.*, 2017, Sathe, 2018, Alvarez *et al.*, 2019, Siqueira, 2023, Bülbül *et al.*, 2024 e Sevilla *et al.*, 2025). Os SPZ de carneiro são muito sensíveis ao *stress* ao frio (Bancheva *et al.*, 2021 e Sevilla *et al.*, 2025), dado que a sua membrana plasmática é pobre em colesterol, tem uma elevação relação de ácidos gordos insaturados:ácidos gordos saturados (grande quantidade de ácidos gordos polinsaturados) e uma inadequada capacidade antioxidante (Sevilla *et al.*, 2025). O choque ao frio causa lesões no acrossoma, no núcleo, nas mitocôndrias, no axonema e na membrana plasmática (Alcay *et al.*, 2015 e Sevilla *et al.*, 2025).

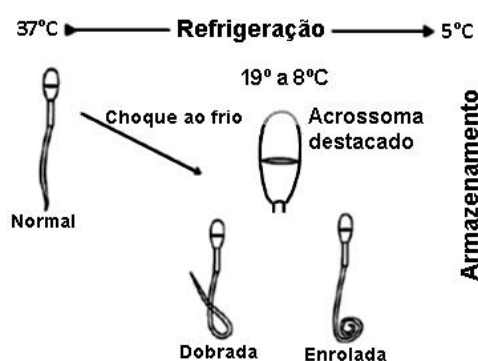


Figura 1 – Danos morfológicos causados pela refrigeração (Silva *et al.*, 2017).

### 1.1. CONTROLO REPRODUTIVO

A IA deve ser realizada depois de se controlar a atividade ovária das ovelhas (Palacios, 2010, Fleisch *et al.*, 2012, Fonseca *et al.*, 2017, Menchaca *et al.*, 2017, Fornazari, 2018, Madrigali

*et al.*, 2021, Pera, 2021, Skliarov *et al.*, 2021, Quintero-Elisea *et al.*, 2022, Yu *et al.*, 2022, Myers e Kasimanickam, 2025 e Waqas e Tibary, 2025), tanto na estação reprodutiva, como na de anestro (Skliarov *et al.*, 2021). Nos pequenos ruminantes, a indústria da IA não está organizado da mesma forma que está organizada a indústria da IA em bovinos (Sathe, 2018). Nas ovelhas e nas cabras não faz qualquer sentido económico e de manejo inseminá-las à medida que apresentam cio (Fornazari, 2018 e Pera, 2021). Ao contrário do que sucede, por exemplo, nas cabras (Simões, 1984, Broom e Fraser, 2007, 2015, Broom, 2022 e Flis e Molik, 2024), nas ovelhas é difícil identificar os sinais de cio, dado que eles tendem a ser muito discretos (Simões, 1984, Broom e Fraser, 2007, Abecia *et al.*, 2011, Santolaria *et al.*, 2011, Broom e Fraser, 2015, Sutton e Alexander, 2019, Broom, 2022 e Flis e Molik, 2024). A utilização de rufiões para identificar os cios não é praticável, uma vez que é muito laboriosa e implica uma elevada disponibilidade de tempo (Eldomany *et al.*, 2023). A Inseminação Artificial a Tempo Fixo (IATF) é o método mais eficaz de inseminar no mesmo dia um elevado número de fêmeas, sem ser necessário identificar o início do cio (Menchaca *et al.*, 2017, Martinez-Ros *et al.*, 2018a, González-Bulnes *et al.*, 2020, Madrigali *et al.*, 2021 e Eldomany *et al.*, 2023). Porém, ela implica uma sincronização estreita dos cios (Santolaria *et al.*, 2011, Vilariño *et al.*, 2017, Eldomany *et al.*, 2023 e Myers e Kasimanickam, 2025).

Não existe um protocolo ideal de controlo da atividade reprodutiva (Azevedo *et al.*, 2006, Fornazari, 2018, Payan *et al.*, 2022, Quintero-Elisea *et al.*, 2022, Myers e Kasimanickam, 2025 e Waqas e Tibary, 2025). Nas últimas décadas foram criados diversos protocolos (González-Bulnes *et al.*, 2010, Abecia *et al.*, 2012, Dendena, 2017, Fornazari, 2018 e Skliarov *et al.*, 2021). Existem protocolos naturais, hormonais e mistos (Azevedo *et al.*, 2006, Forcada *et al.*, 2010, Mateus, 2014, Afonso, 2015, Valentim *et al.*, 2015a,b, Eldomany *et al.*, 2023, Deac *et al.*, 2024 e Okulmus e Atakisi, 2024). O melhor protocolo é aquele que produz melhores taxas reprodutivas (Fornazari, 2018 e Yu *et al.*, 2022), aos menores custos possíveis (Yu *et al.*, 2022). Contudo, a resposta das fêmeas aos tratamentos é muito variável e depende de fatores genéticos (espécie, raça, indivíduo), individuais (idade, estado fisiológico, estado nutricional, estado de saúde), ambientais (fotoperíodo, alimentação, condições climáticas), sociais e de manejo, do protocolo aplicado (*timing*, hormonas e doses) e do sistema de beneficiação adoptado (monta natural ou IA) (Azevedo *et al.*, 2006, López-Sebastian *et al.*, 2007, Bartlewski *et al.*, 2008, González-Bulnes *et al.*, 2010, Abecia *et al.*, 2012, Bukar *et al.*, 2012, Fornazari, 2018, Bancheva *et al.*, 2021, Skliarov *et al.*, 2021, Cizmeci *et al.*, 2022 e Quintero-Elisea *et al.*, 2022). Esta variabilidade é particularmente marcada durante a estação de anestro (Bartlewski *et al.*, 2008), altura em que o hipotálamo é muito sensível à retroacção negativa exercida pelo estradiol (E<sub>2</sub>) (Abecia *et al.*, 2011, Kaya *et al.*, 2013 e Fornazari, 2018). Na estação de anestro, a taxa de fertilidade é

naturalmente baixa (Okulmus e Atakisi, 2024 e Waqas e Tibary, 2025) e a taxa de mortalidade embrionária é naturalmente elevada (Okulmus e Atakisi, 2024).

O controlo da atividade reprodutiva das ovelhas permite organizar o manejo de toda a exploração, reduzir os períodos improdutivo, aumentar a produtividade (melhorar as taxas reprodutivas), programar a época de parição, ajustar o ciclo de produção aos ciclos sazonais do preço dos alimentos e da mão-de-obra e da procura dos seus produtos, criar lotes uniformes de borregos/cabritos para venda (Scaramuzzi *et al.*, 1988, Steyn, 2003, Freitas e Rubianes, 2004, Garcia *et al.*, 2004, Azevedo *et al.*, 2006, Palacios, 2010, Abecia *et al.*, 2011, 2012, Valentim *et al.*, 2015a, Ashour *et al.*, 2018, Berean *et al.*, 2021, Pera, 2021, Güner e Bilen, 2022, Korkmaz e Yaprak, 2022, Quintero-Elisea *et al.*, 2022, Yu *et al.*, 2022, Okulmus e Atakisi, 2024, Rouzrokh *et al.*, 2024, Myers e Kasimanicham, 2025 e Waqas e Tibary, 2025).

Os tratamentos hormonais de controlo reprodutivo mais utilizados são os que envolvem a utilização de P<sub>4</sub>/progestagénios (Martínez-Tinajero *et al.*, 2007, Koyuncu e Alticekic, 2010, Santolaria *et al.*, 2011, Abecia *et al.*, 2012, Martinez-Ros *et al.*, 2018a, Al-Hamedawi *et al.*, 2020, Habeeb e Kutzler, 2021, Madrigali *et al.*, 2021, Skliarov *et al.*, 2021, Payan *et al.*, 2022, Quintero-Elisea *et al.*, 2022, Valizadeh *et al.*, 2022, Yu *et al.*, 2022, Alhimaidi *et al.*, 2023, Daham *et al.*, 2023, Eldomany *et al.*, 2023, Roshan *et al.*, 2023, Taçyildiz *et al.*, 2023, Okulmus e Atakisi, 2024, Salama *et al.*, 2024 e Myers e Kasimanickam, 2025), tanto na estação reprodutiva, como particularmente na de anestro (Koyuncu e Alticekic, 2010, Santolaria *et al.*, 2011, Al-Hamedawi *et al.*, 2020, González-Bulnes *et al.*, 2020, Bancheva *et al.*, 2021, Skliarov *et al.*, 2021, Kuru *et al.*, 2022, Yu *et al.*, 2022, Alhimaidi *et al.*, 2023, Daham *et al.*, 2023, Eldomany *et al.*, 2023, Taçyildiz *et al.*, 2023 e Okulmus e Atakisi, 2024). Na estação reprodutiva, estas hormonas permitem prolongar artificialmente o ciclo éstrico (Santolaria *et al.*, 2011, Ashour *et al.*, 2018, Berean *et al.*, 2021 e Korkmaz e Yaprak, 2022), simulando a libertação de P<sub>4</sub> pelo corpo Lúteo (CL) (Berean *et al.*, 2021 e Valizadeh *et al.*, 2022). Nos ovelhas cíclicas, a sincronização deaios com recurso à administração de duas injeções de prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), com 7-12 dias de intervalo, não permite uma sincronização estreita dos mesmos, o que implica a deteção dosaios (Myers e Kasimanickam, 2025). Desta forma não é possível realizar IATF, dado que resulta em baixas taxas de fertilidade e altas taxas de mortalidade embrionária (Myers e Kasimanickam, 2025).

### **1.1.1. TRATAMENTOS COM PROGESTERONA/PROGESTAGÉNIOS**

Os progestagénios são substâncias sintéticas que mimetizam os efeitos biológicos da P<sub>4</sub>, ou seja, alteram a secreção pré-ovulatória de E<sub>2</sub> (Leyva *et al.*, 1998, Azevedo *et al.*, 2006, Abecia *et al.*, 2012, Pera, 2021 e Waqas e Tibary, 2025), bloqueando a sua retroação positiva sobre a

secreção da Hormona Estimuladora da Liberação de Gonadotropinas (GnRH)/Hormona Luteinizante (LH) (Santos-Jimenez *et al.*, 2022 e Waqas e Tibary, 2025) e desta forma inibindo a secreção destas hormonas (Santos-Jimenez *et al.*, 2022), a maturação dos folículos pré-ovulatórios (Koyuncu e Alticekic, 2010), as manifestações de cio e a ovulação e prolongando a fase lútea (Leyva *et al.*, 1998, Azevedo *et al.*, 2006, Simonetti *et al.*, 2008, Abecia *et al.*, 2012, Hashim *et al.*, 2013, Afonso, 2015, Valentim *et al.*, 2015b, Mirshamsollahi, 2016, Conradi, 2018, Pera, 2021 e Korkmaz e Yaprak, 2022). Na fase lútea, quando os níveis circulantes de P<sub>4</sub> são naturalmente elevados, a frequência da secreção de GnRH/LH é baixa (Santos-Jimenez *et al.*, 2022). A ação biológica dos progestagénios é superior à da própria P<sub>4</sub>, pelo que são usados em doses mais baixas (Romano, 1996, Azevedo *et al.*, 2006 e Skliarov *et al.*, 2021). De igual modo, a sua taxa de metabolização é elevada, uma vez que têm uma semivida reduzida (Azevedo *et al.*, 2006 e Pera, 2021), ainda que superior à da própria P<sub>4</sub> (Leboeuf *et al.*, 2000).

Os tratamentos com P<sub>4</sub>/progestagénios implicam a utilização de diferentes dispositivos vaginais impregnados com estas hormonas (Azevedo *et al.*, 2006, Abecia *et al.*, 2012, Lone *et al.*, 2016, Mohan, 2017, Pera, 2021, Korkmaz e Yaprak, 2022, Yu *et al.*, 2022, Alhimaidi *et al.*, 2023, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025). A P<sub>4</sub> é veiculada através de dispositivos vaginais como o CIDR (*Controlled Internal Drug Release*) (Abecia *et al.*, 2012, Martinez-Ros *et al.*, 2018a, Swelum *et al.*, 2019, González-Bulnes *et al.*, 2020, Korkmaz e Yaprak, 2022, Taçyildiz *et al.*, 2023, Myers e Kasimanickam, 2025 e Walker *et al.*, 2025) e o DICO (*Caprine-ovine Intravaginal Device*) (Menchaca *et al.*, 2017, González-Bulnes *et al.*, 2020 e Pera, 2021) ou de implantes subcutâneos (Waqas e Tibary, 2025). Ambos os dispositivos vaginais estão impregnados com 0,3 g de P<sub>4</sub> (Abecia *et al.*, 2011, 2012, Menchaca *et al.*, 2017, González-Bulnes *et al.*, 2020, Pera, 2021 e Rouzrokh *et al.*, 2024). Depois de colocados na vagina, eles promovem um rápido aumento dos níveis circulantes de P<sub>4</sub> (Wheaton *et al.*, 1993, Abecia *et al.*, 2012, González-Bulnes *et al.*, 2020 e Waqas e Tibary, 2025), cujo pico é alcançado cerca de 3 dias mais tarde, após o que diminuem gradualmente (Figura 2) (Wheaton *et al.*, 1993, Abecia *et al.*, 2012 e Waqas e Tibary, 2025). Após a sua remoção, a secreção pulsátil de GnRH/LH eleva-se rapidamente (Leyva *et al.*, 1998, Driancourt *et al.*, 2012 e Waqas e Tibary, 2025). Os primeiros sinais de cio surgem em 24-48 (Azevedo *et al.*, 2006 e Pera, 2021), 40-60 (Waqas e Tibary, 2025), 48 (Al-Rawi e Hussain, 2024 e Waqas e Tibary, 2025) ou 48-94 horas (Romano, 2024) e a ovulação ocorre em 48-72 ou 70 horas pós-remoção do CIDR (Azevedo *et al.*, 2006 e Pera, 2021). Koyuncu e Alticekic (2010) afirmam que o cio e a ovulação ocorrem num período de 2-8 dias pós-remoção dos dispositivos vaginais.

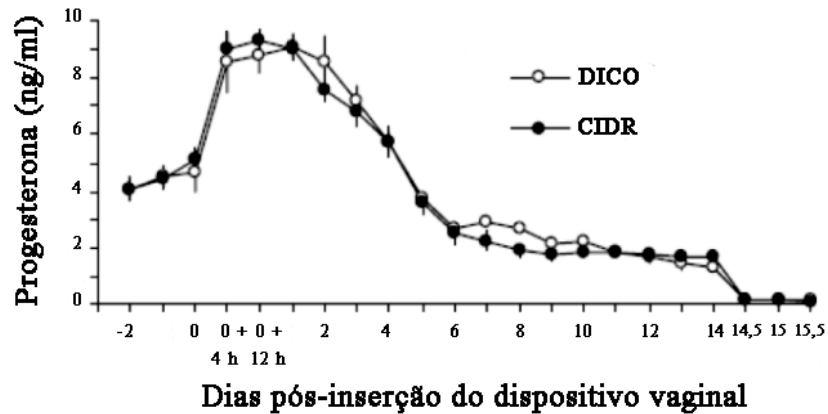


Figura 2 – Curva temporal da liberação de progesterona a partir do CIDR e do DICO (Vilariño *et al.*, 2010).

As esponjas vaginais são a forma de administração de progestagénios (Uribe-Velásquez *et al.*, 2009, Abecia *et al.*, 2011, 2012, Dias *et al.*, 2015, Santos-Neto *et al.*, 2015, Valentim *et al.*, 2015b, Lone *et al.*, 2016, Dendena, 2017, Conradi, 2018, Fornazari, 2018, Martinez-Ros *et al.*, 2018a, Pera, 2021, Skliarov *et al.*, 2021, Korkmaz e Yaprak, 2022, Yu *et al.*, 2022, Myers e Kasimanickam, 2025, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025). Os progestagénios mais usados são o FGA (20 ou 30 mg) e o acetato de medroxiprogesterona (MAP; 60 mg) (Robinson, 1965, Romano, 1996, Ungerfeld e Rubianes, 2002, Zeleke *et al.*, 2005, Abecia *et al.*, 2011, Santolaria *et al.*, 2011, Abecia *et al.*, 2012, Lone *et al.*, 2016, Cueto *et al.*, 2020, González-Bulnes *et al.*, 2020, Pera, 2021, Korkmaz e Yaprak, 2022, Yu *et al.*, 2022, Daham *et al.*, 2023, Eldomany *et al.*, 2023, Taçyildiz *et al.*, 2023, Al-Rawi e Hussain, 2024, Myers e Kasimanickam, 2025, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025). Os progestagénios são mais ativos do que a P<sub>4</sub> (Skliarov *et al.*, 2021).

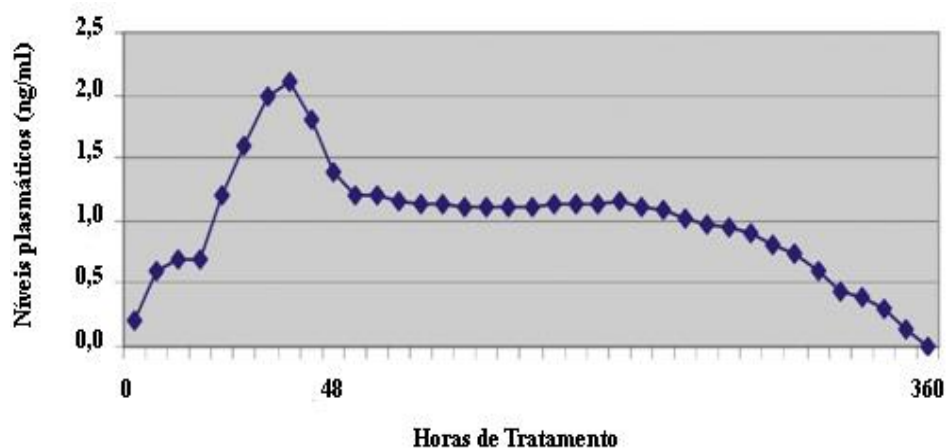


Figura 3 – Variação temporal dos níveis plasmáticos médios de cronolona em ovelhas tratadas com Chronogest CR (Driancourt, 2012).

O FGA e o MAP são duas moléculas sintéticas igualmente eficazes (Zelege *et al.*, 2005, Abecia *et al.*, 2011, 2012, Lone *et al.*, 2016, Pera, 2021 e Waqas e Tibary, 2025), ainda que o FGA seja duas vezes mais potente do que o MAP e 24 vezes mais do que a P<sub>4</sub> (Robinson, 1965, Romano, 1996, Ungerfeld e Rubianes, 2002, Zelege *et al.*, 2005, Abecia *et al.*, 2011, 2012, Lone *et al.*, 2016 e Pera, 2021). Nos primeiros dois dias pós-colocação das esponjas vaginais, os seus níveis circulantes tendem a aumentar, após o que tendem a diminuir com o tempo (Figura 3) (Padilha, 2007). A maioria das ovelhas apresentam cio nas primeiras 24-48 horas (Mohan, 2017 e Skliarov *et al.*, 2021).

Relativamente às esponjas vaginais, os CIDRs antecipam o cio (Walker *et al.*, 2025), o pulso pré-ovulatório de LH (Walker *et al.*, 2025) e a ovulação (Myers e Kasimanickam, 2025 e Walker *et al.*, 2025) e promovem maiores taxas de fertilidade (Myers e Kasimanickam, 2025 e Walker *et al.*, 2025 e Walker *et al.*, 2025), de prolificidade (Myers e Kasimanickam, 2025 e Walker *et al.*, 2025 e Walker *et al.*, 2025) e de fecundidade (Myers e Kasimanickam, 2025 e Walker *et al.*, 2025). Nos tratamentos longos com P<sub>4</sub> e eCG, o cio surge entre 32,0 ± 6,0 a 42,5 ± 5,9 horas depois da remoção dos CIDRs (Martinez-Ros *et al.*, 2018a, Martinez-Ros e Gonzalez-Bulnes, 2019 e Walker *et al.*, 2025). Nos tratamentos longos com progestagénios e eCG, o cio aparece cerca de 48,0 ± 16,8 horas pós-remoção de esponjas vaginais (Vilariño *et al.*, 2011 e Walker *et al.*, 2025). Nos tratamentos curtos com progestagénios e eCG, o cio ocorre entre 65,8 ± 2,3 e 73,8 ± 5,9 horas (Martinez-Ros *et al.*, 2018a e Martinez-Ros e Gonzalez-Bulnes, 2019). Os tratamentos com CIDR antecipam igualmente o momento da ovulação (CIDRs: 55 horas vs. progestagénios: 60 horas) (Myers e Kasimanickam, 2025 e Walker *et al.*, 2025). Porém, os tratamentos com progestagénios são mais baratos do que os tratamentos com P<sub>4</sub> (Wheaton *et al.*, 1993 e Rouzrokh *et al.*, 2022).

A duração dos tratamentos com P<sub>4</sub>/progestagénios pode ser longa ou curta (Azevedo *et al.*, 2006, Abecia *et al.*, 2012, Mohan, 2017, Kuru *et al.*, 2022, Santos-Jimenez *et al.*, 2022, Almadaly *et al.*, 2023, Akbulut e Kutlu, 2024, Salama *et al.*, 2024, Myers e Kasimanickam, 2025, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025).

#### 1.1.1.1. TRATAMENTOS LONGOS COM PROGESTERONA/PROGESTAGÉNIOS

Os tratamentos longos com P<sub>4</sub>/progestagénios têm uma duração próxima da da fase lútea do ciclo éstrico, ou seja, 7-14 (Ashour *et al.*, 2018), 9-14 (Quintero-Elisea *et al.*, 2022), 9-16 (Yu *et al.*, 2022), 10-14 (Martinez *et al.*, 2015, Habeeb e Kutzler, 2021, Skliarov *et al.*, 2021 e Payan *et al.*, 2022), 12-14 (Santolaria *et al.*, 2011, Martinez-Ros *et al.*, 2018a, González-Bulnes *et al.*, 2020, Madrigali *et al.*, 2021, Güner e Bilen, 2022, Santos-Jimenez *et al.*, 2022, Daham *et al.*, 2023,

Moghaddam e Rahimi-Feyli, 2023, Taçyildiz *et al.*, 2023, Al-Rawi e Hussain, 2024, Rouzrokh *et al.*, 2024 e Myers e Kasimanickam, 2025), 12-15 (Azevedo *et al.*, 2006 e Abecia *et al.*, 2012) ou 12-16 dias (Waqas e Tibary, 2025), ou seja, ultrapassam a duração da semivida de um possível CL presente no ovário quando da colocação dos dispositivos vaginais (Martinez-Ros *et al.*, 2018a). Após a remoção destes dispositivos, o cio surge no prazo de 24-36 (Myers e Kasimanickam, 2025), 24-72 (Steyn, 2003, Dendena, 2017 e Fornazari, 2018), 30-37 (Kuru *et al.*, 2022), 30-48 (Taçyildiz *et al.*, 2023), 34,5-74 (Kacar *et al.*, 2008), 39-48 (Al-Rawi e Hussain, 2024), 48 (Habeeb e Kutzler, 2021 e Waqas e Tibary, 2025) ou 50,3-59 horas (Kaya *et al.*, 2013). Estes tratamentos continuam a ser os preferidos dos criadores (González-Bulnes *et al.*, 2020, Moghaddam e Rahimi-Feyli, 2023, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025).

Na estação reprodutiva, os tratamentos longos com P<sub>4</sub>/progestagénios tendem a diminuir a taxa de fertilidade (Scaramuzzi *et al.*, 1988, Johnson *et al.*, 1996, Ungerfeld e Rubianes, 1999, Viñoles *et al.*, 1999, 2001, Santolaria *et al.*, 2011, Ashour *et al.*, 2018, Martinez-Ros *et al.*, 2018a, González-Bulnes *et al.*, 2020 e Moghaddam e Rahimi-Feyli, 2023), dado que promovem a assincronia entre o cio e a ovulação (Santolaria *et al.*, 2011), alteram a secreção de hormonas esteróides (Scaramuzzi *et al.*, 1988), afetam negativamente o transporte dos SPZ através do trato genital feminino (Scaramuzzi *et al.*, 1988), particularmente do canal cervical (Santolaria *et al.*, 2011), e prejudicam o desenvolvimento do oócito (Santolaria *et al.*, 2011), provavelmente devido à prolongada duração destes tratamentos (Santolaria *et al.*, 2011, Martinez-Ros *et al.*, 2018a e Moghaddam e Rahimi-Feyli, 2023).

A partir do 7º dia do tratamento (Waqas e Tibary, 2025), os níveis circulantes de P<sub>4</sub>/progestagénios tornam-se sublúteos (Greyling *et al.*, 1994, Viñoles *et al.*, 2001, Vilariño *et al.*, 2013, Swelum *et al.*, 2018 e Waqas e Tibary, 2025). Estes níveis sublúteos afetam negativamente o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-ovários (Leyva *et al.*, 1998, Azevedo *et al.*, 2006, Santolaria *et al.*, 2011, Abecia *et al.*, 2012, Bartlewski *et al.*, 2017 e Walker *et al.*, 2025), dado que não suprimem completamente a secreção de LH (Greyling *et al.*, 1994, Noël *et al.*, 1994, Leyva *et al.*, 1998, Viñoles *et al.*, 2001, Vilariño *et al.*, 2013, Swelum *et al.*, 2018 e González-Bulnes *et al.*, 2020). Consequentemente, eles modificam a secreção de E<sub>2</sub> (na fase pré-ovulatória) (González-Bulnes *et al.*, 2020) e comprometem o crescimento e a maturação folicular (Menchaca e Rubianes, 2004, González-Bulnes *et al.*, 2005, Pera, 2021, Valizadeh *et al.*, 2022 e Walker *et al.*, 2025), podendo causar a sua atresia e prejudicar o desenvolvimento de novos folículos ovulatórios (Noel *et al.*, 1994, Leyva *et al.*, 1998, González-Bulnes *et al.*, 2020 e Walker *et al.*, 2025). O desenvolvimento folicular anormal pode determinar a formação de folículos persistentes com oócitos II envelhecidos (González-Bulnes *et al.*, 2020, Pera, 2021 e Valizadeh *et al.*, 2022), a sua ovulação (González-Bulnes *et al.*, 2020 e Valizadeh *et al.*, 2022), o

desenvolvimento de embriões inviáveis (González-Bulnes *et al.*, 2020 e Walker *et al.*, 2025) e a formação de um CL anormal (González-Bulnes *et al.*, 2020). A alteração da secreção de LH previne ainda as manifestações de cio (González-Bulnes *et al.*, 2020). Por outro lado, o transporte e a sobrevivência dos SPZ no trato genital feminino é prejudicado (González-Bulnes *et al.*, 2020).

A flora microbiana normal da vagina previne o crescimento de microrganismos patogênicos e aumenta a resistência do órgão ao aparecimento de doenças, garantindo um balanço ecológico local (Zhao *et al.*, 2014). Por outro lado, ela aumenta a atratividade sexual da fêmea (Ungerfeld e Silva, 2005, Gatti e Ungerfeld, 2012, Zhao *et al.*, 2014 e Swelum *et al.*, 2019). Sabe-se que a P<sub>4</sub>/progestagênios deprime a imunidade vaginal (González-Bulnes *et al.*, 2020) e que os dispositivos vaginais (esponjas vaginais e CIDRs) podem modificar a dinâmica da microbiota vaginal (perfil e número de microrganismos) (González-Bulnes *et al.*, 2020, Altýncekic *et al.*, 2021, Palacios *et al.*, 2022 e Waqas e Tibary, 2025), promover alterações fisiológicas favoráveis ao crescimento de bactérias patogênicas oportunistas (Toquet *et al.*, 2025) e a disbiose (desequilíbrio da microbiota) (Bragança *et al.*, 2017, Barba *et al.*, 2024 e Toquet *et al.*, 2025).

A alteração da microbiota resulta da ação física dos dispositivos vaginais (causadora de inflamação local) (Al-Hamedawi *et al.*, 2003, Martins *et al.*, 2009, Bragança *et al.*, 2017 e González-Bulnes *et al.*, 2020), da diminuição da formação de linfócitos (Manes *et al.*, 2010) e da retenção das secreções vaginais (Al-Hamedawi *et al.*, 2003, Bragança *et al.*, 2017 e González-Bulnes *et al.*, 2020). Estas condições promovem a proliferação de *Escherichia coli* (Sargison *et al.*, 2007, Bragança *et al.*, 2017, González-Bulnes *et al.*, 2020 e Altýncekic *et al.*, 2021), de *Salmonella spp.* (González-Bulnes *et al.*, 2020 e Myers e Kasimanickam, 2025), de *Staphylococcus aureus* (González-Bulnes *et al.*, 2020 e Myers e Kasimanickam, 2025) e de *Enterobacteriaceae* (Bragança *et al.*, 2017, Quereda *et al.*, 2020, Al-Rawi e Hussain, 2024 e Barba *et al.*, 2024) e alteram a diversidade bacteriana (Manes *et al.*, 2015, Bragança *et al.*, 2017 e Barba *et al.*, 2024). Consequentemente, os dispositivos vaginais podem causar descargas vaginais anormais (González-Bulnes *et al.*, 2020 e Toquet *et al.*, 2025), purulentas (*S. aureus*) (González-Bulnes *et al.*, 2020 e Al-Rawi e Hussain, 2024) e com odor desagradável (fétido) (González-Bulnes *et al.*, 2020 e Almadaly *et al.*, 2023), acompanhadas de eritema (González-Bulnes *et al.*, 2020 e Toquet *et al.*, 2025), da presença de células inflamatórias (González-Bulnes *et al.*, 2020 e Toquet *et al.*, 2025) e do aumento do pH ( $\pm 8$ ) (González-Bulnes *et al.*, 2020, Myers e Kasimanickam, 2025 e Toquet *et al.*, 2025). Podem ainda surgir aderências das esponjas vaginais às paredes da vagina, que reduzem a taxa de fertilidade (Scudamore, 1988, González-Bulnes *et al.*, 2020, Barba *et al.*, 2024 e Toquet *et al.*, 2025).

Nos tratamentos longos com P<sub>4</sub>/progestagênios, a probabilidade das esponjas vaginais caírem e ocorrerem vaginites aumenta significativamente (modificação prolongada do ambiente

vaginal) (Suárez *et al.*, 2006, Martins *et al.*, 2009, Manes *et al.*, 2010, Oliveira *et al.*, 2013, Manes *et al.*, 2014, Dias *et al.*, 2015, Manes *et al.*, 2016, Mirshamsollahi, 2016, Menchaca *et al.*, 2017, Manes *et al.*, 2018, González-Bulnes *et al.*, 2020, Rouzrokh *et al.*, 2022, Moghaddam e Rahimi-Feyli, 2023, Al-Rawi e Hussain, 2024, Rouzrokh *et al.*, 2024, Myers e Kasimanickam, 2025 e Waqas e Tibary, 2025), devido à prolongada retenção das secreções dentro da vagina (Al-Hamedawi *et al.*, 2003, González-Bulnes *et al.*, 2020, Al-Rawi e Hussain, 2024, Rouzrokh *et al.*, 2024 e Waqas e Tibary, 2025), que altera a microbiota local (Sagison *et al.*, 2007, Vasconcelos *et al.*, 2016, González-Bulnes *et al.*, 2020, Rouzrokh *et al.*, 2024 e Waqas e Tibary, 2025). No lúmen vaginal, a presença de leucócitos, promovida por uma inflamação ou infecção, pode prejudicar ainda mais a viabilidade dos SPZ e conseqüentemente a taxa de fertilidade (Suarez *et al.*, 2006 e Rouzrokh *et al.*, 2024).

As vaginites podem ser prevenidas adotando medidas profiláticas, como a higienização da vulva e áreas contiguas (González-Bulnes *et al.*, 2020). Adicionalmente pode-se pulverizar a superfície das esponjas com um antibiótico (Viñoles *et al.*, 2011, González-Bulnes *et al.*, 2020 e Barba *et al.*, 2024). Contudo, a utilização de antibióticos é cada vez mais desaconselhável (González-Bulnes *et al.*, 2020, Serrano *et al.*, 2020 e Barba *et al.*, 2024). Ela altera a microbiota vaginal (Serrano *et al.*, 2020 e Barba *et al.*, 2024) e promove a resistência dos microrganismos patogênicos a estes fármacos (González-Bulnes *et al.*, 2020, Altýncekic *et al.*, 2021 e Payan *et al.*, 2022). A adição de antibióticos aos dispositivos vaginais é ainda responsável pela presença de alguns dos seus resíduos no leite (Romero *et al.*, 2016, Barba *et al.*, 2024 e Toquet *et al.*, 2025).

#### 1.1.1.2. TRATAMENTOS CURTOS COM PROGESTERONA/PROGESTAGÉNIOS

Na estação reprodutiva, a aplicação de tratamentos curtos com P<sub>4</sub>/progestagênios, por um período de 5-6 (Santolaria *et al.*, 2011, Skliarov *et al.*, 2021 e Moghaddam e Rahimi-Feyli, 2023), 5-7 (Menchaca e Rubianes 2004, Menchaca *et al.*, 2017, Martinez-Ros *et al.*, 2018a, González-Bulnes *et al.*, 2020, Güner e Bilen, 2022, Kuru *et al.*, 2022, Santos-Jimenez *et al.*, 2022, Yu *et al.*, 2022, Taçyildiz *et al.*, 2023, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025), 5-9 (Al-Rawi e Hussain, 2024) ou 6-7 dias (Daham *et al.*, 2023, Rouzrokh *et al.*, 2024 e Myers e Kasimanickam, 2025), ou seja, por um período de tempo inferior a metade da semivida do CL (Martinez-Ros *et al.*, 2018a, Kuru *et al.*, 2022 e Taçyildiz *et al.*, 2023), parece resolver vários dos problemas causados pelos tratamentos longos com P<sub>4</sub>/progestagênios (Menchaca e Rubianes 2004, González-Bulnes *et al.*, 2020, Pera, 2021, Moghaddam e Rahimi-Feyli, 2023 e Walker *et al.*, 2025), nomeadamente, o menor tempo de exposição a doses sublúteas, o que resulta num controlo mais adequado da dinâmica folicular e da ovulação (Menchaca *et al.*, 2017, González-Bulnes *et al.*, 2020, Valizadeh

*et al.*, 2022 e Walker *et al.*, 2025) e numa melhor taxa de fertilidade (González-Bulnes *et al.*, 2020 e Valizadeh *et al.*, 2022).

Na estação de anestro ou nos períodos de transição entre as estações reprodutiva e de anestro e vice-versa, a pré-sensibilização do eixo hipotálamo-hipófise-ovários com P<sub>4</sub>/progestagénios é necessária à expressão plena da retroação positiva exercida pelo E<sub>2</sub> sobre a secreção de GnRH (Caraty e Skinner, 1999, Ungerfeld e Rubianes, 1999, D'Avila *et al.*, 2022 e Almadaly *et al.*, 2023). Nesta estação ou nos períodos de transição, os tratamentos prévios com P<sub>4</sub>/progestagénios promovem a secreção de LH no ciclo éstrico seguinte, favorecem o processo luteotrópico e melhoram a sobrevivência e o transporte dos SPZ no trato genital feminino, ou seja, aumentam a taxa de fertilidade (Madrigali *et al.*, 2021).

Nos tratamentos curtos com P<sub>4</sub>/progestagénios, o aumento dos níveis circulantes de destas hormonas, promovidos pelos dispositivos vaginais, ocorre por um período de tempo inferior ao da duração da fase lútea do ciclo éstrico (Azevedo *et al.*, 2006, González-Bulnes *et al.*, 2020, Habeeb e Kutzler, 2021, Pera, 2021, Kuru *et al.*, 2022, Tacyildiz *et al.*, 2023 e Waqas e Tibary, 2025). Por este motivo, estes tratamentos têm de ser complementados com a administração de PGF<sub>2α</sub> ou seus análogos sintéticos, quando da colocação ou da remoção dos dispositivos vaginais, a fim de induzir a lise do CL presente nalgumas fêmeas (Menchaca e Rubianes, 2004, Letelier *et al.*, 2009, Santolaria *et al.*, 2011, Cox *et al.*, 2012, Menchaca *et al.*, 2017, González-Bulnes *et al.*, 2020, Habeeb e Kutzler, 2021, Kuru *et al.*, 2022, Alhimaidi *et al.*, 2023, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025). Ela é feita através de uma administração intramuscular única (menor manipulação das fêmeas, logo menos *stress*, maior bem-estar animal) (Azevedo *et al.*, 2006, De Rensis *et al.*, 2011, Abecia *et al.*, 2012 e Yu *et al.*, 2022).

Vários autores entendem que a administração de PGF<sub>2α</sub> deve ser feita quando da colocação dos dispositivos vaginais (Azevedo *et al.*, 2006, Pera, 2021, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025), para evitar os efeitos deletérios que esta hormona tem sobre a atividade ovárica e a ovulação, o transporte, o armazenamento e a capacitação dos SPZ no trato genital feminino (Azevedo *et al.*, 2006, Pera, 2021, Almadaly *et al.*, 2023 e Walker *et al.*, 2025) e as taxas de fertilidade (Almadaly *et al.*, 2023, Weaver *et al.*, 2023 e Walker *et al.*, 2025) e de prolificidade (Fierro *et al.*, 2011 e Almadaly *et al.*, 2023). Contudo, nessa altura, a administração de PGF<sub>2α</sub> pode deixar algumas fêmeas não sincronizadas – as que se encontram na fase inicial da fase lútea e cujo CL não é ainda funcional (ou sensível) quando da colocação dos dispositivos vaginais (González-Bulnes *et al.*, 2020). Neste sentido, Martínez-Ros *et al.* (2018b) recomendam a sua administração quando da remoção dos dispositivos vaginais. Menchaca *et al.* (2017) afirmam que a administração de PGF<sub>2α</sub> quando da remoção dos dispositivos vaginais também produz bons

resultados reprodutivos. Neste caso, a ovulação ocorre 60 horas depois e a IATF cervical deve ser feita 48 horas pós-remoção dos dispositivos vaginais (Menchaca *et al.*, 2017).

A PGF<sub>2α</sub> só é eficaz quando existe um CL funcional (com recetores para esta hormona) (Koyuncu e Alticekic, 2010, Valentim *et al.*, 2015b, Lone *et al.*, 2016, González-Bulnes *et al.*, 2020, Habeeb e Kutzler, 2021, Pera, 2021, Skliarov *et al.*, 2021, Kuru *et al.*, 2022, Yu *et al.*, 2022, Almadaly *et al.*, 2023 e Roshan *et al.*, 2023), ou seja, do 3º dia pós-ovulação até ao dia em que ocorre a luteólise natural do CL (Valentim *et al.*, 2015b e Pera, 2021). Na estação de anestro ou nos períodos de transição, os efeitos da PGF<sub>2α</sub> podem ser nulos (devido à inexistência de um CL funcional) (Azevedo *et al.*, 2006, Koyuncu e Alticekic, 2010, Abecia *et al.*, 2012, Bancheva *et al.*, 2021, Skliarov *et al.*, 2021, Yu *et al.*, 2022, Almadaly *et al.*, 2023 e Roshan *et al.*, 2023).

#### 1.1.1.3. COMPARAÇÃO ENTRE TRATAMENTOS LONGOS E CURTOS

Tanto na estação reprodutiva, como na de anestro, os tratamentos longos com P<sub>4</sub>/progestagénios são tão eficazes quanto os tratamentos curtos (Martinez-Ros *et al.*, 2018a, Kuru *et al.*, 2022, Moghaddam e Rahimi-Feyli, 2023 e Taçyildiz *et al.*, 2023) na promoção do desenvolvimento do oócito (Cizmeci *et al.*, 2022), do cio (Almadaly *et al.*, 2023), da sincronização/indução do cio (Martinez-Ros *et al.*, 2018a e González-Bulnes *et al.*, 2020), da ovulação (Habeeb e Kutzler, 2021, Santos-Jimenez *et al.*, 2022, Eldomany *et al.*, 2023 e Salama *et al.*, 2024), da formação de um CL funcional (Martinez-Ros *et al.*, 2018a e González-Bulnes *et al.*, 2020) e da fertilidade (Martinez-Ros *et al.*, 2018a e Taçyildiz *et al.*, 2023). Martinez-Ros *et al.* (2018a) afirmam que os tratamentos longos antecipam o aparecimento do cio. Altınçekiç e Koyuncu (2019) garantem que estes tratamentos aumentam a percentagem de ovelhas que manifestam cio e a taxa de fertilidade. Biehl *et al.* (2019) constataram que os tratamentos longos elevam a taxa de fertilidade. Almadaly *et al.* (2023) asseguram que estes tratamentos aumentam a percentagem de ovelhas que manifestam cio e a taxa de prolificidade. Pelo contrário, Menchaca *et al.* (2009) verificaram que os tratamentos curtos mantêm elevados os níveis circulantes de P<sub>4</sub>/progestagénios, que previnem a ocorrência de folículos persistentes, e resultam num aumento da taxa de fertilidade. Moghaddam e Rahimi-Feyli (2023) observaram igualmente que os tratamentos curtos promovem maiores taxas de fertilidade.

Na estação reprodutiva, os tratamentos longos com CIDR, FGA ou MAP e eCG resultam na promoção do cio e da ovulação e em elevadas taxas de fertilidade (Wheaton *et al.*, 1993, Romano 2004, Maeini *et al.*, 2007, Ozyurtlu *et al.*, 2010, Menchaca *et al.*, 2017, Yu *et al.*, 2018, Hameed *et al.*, 2021, Quintas *et al.*, 2021, Mateus *et al.*, 2022, Quintas *et al.*, 2022, Valentim *et al.*, 2022, Almadaly *et al.*, 2023, Al-Rawi e Hussain, 2024, Silva, 2025 e Waqas e Tibary, 2025). Segundo

Ungerfeld e Rubianes (2002), Fleisch *et al.* (2012), Habeeb e Kutzler (2021), Quintas *et al.* (2021), Mateus *et al.* (2022), Quintas *et al.* (2022), Valentim *et al.* (2022), Almadaly *et al.* (2023) e Waqas e Tibary (2025), os tratamentos curtos com CIDR, FGA ou MAP e eCG são igualmente eficazes na indução do cio e resultam em iguais taxas de fertilidade. Outros autores afirmam que os tratamentos curtos com CIDR e eCG produzem maiores taxas de fertilidade do que os tratamentos com MAP e eCG (Menchaca *et al.*, 2017). Omontese *et al.* (2014) e Swelum e Alowaimer (2015) consideram que, mesmo que os tratamentos com CIDR e com FGA sejam igualmente eficazes a sincronizar cios, o CIDR promove taxas de fertilidade, de prolificidade e de fecundidade superiores ao FGA. Depois de inseridos nas fêmeas, o CIDR eleva rapidamente os níveis circulantes de P<sub>4</sub>, devido à cinética libertadora deste dispositivo (González-Bulnes *et al.*, 2020). Estes elevados níveis circulantes de P<sub>4</sub>, porque baixam os níveis circulantes de LH, facilitam a renovação folicular, ou seja, o recrutamento de um novo folículo que atingirá o diâmetro pré-ovulatório 5-7 dias pós-colocação do CIDR (Menchaca e Rubianes, 2004 e González-Bulnes *et al.*, 2020). Por seu turno, Mohan (2017) verificou que, tanto na estação reprodutiva, como na de anestro, as esponjas vaginais promovem maiores taxas de fertilidade. O mesmo foi observado por Pera (2021) na estação reprodutiva. Na estação de anestro, os tratamentos com CIDR, FGA ou MAP e eCG são igualmente eficazes na indução da atividade ovárica (Hashemi *et al.*, 2006, Hameed *et al.*, 2021, Al-Rawi e Hussain, 2024 e Waqas e Tibary, 2025), do cio e da taxa de fertilidade (Hameed *et al.*, 2021).

Tal como já foi anteriormente referido, nos tratamentos longos com esponjas vaginais, comparativamente ao que acontece com os tratamentos curtos, aumenta a probabilidade de haver perdas de esponjas e vaginites (Suárez *et al.*, 2006, Martins *et al.*, 2009, Manes *et al.*, 2010, Oliveira *et al.*, 2013, Manes *et al.*, 2014, Dias *et al.*, 2015, Manes *et al.*, 2016, Mirshamsollahi, 2016, Manes *et al.*, 2018, Martinez-Ros *et al.*, 2018a, González-Bulnes *et al.*, 2020, Rouzrokh *et al.*, 2022, Moghaddam e Rahimi-Feyli, 2023, Al-Rawi e Hussain, 2024, Rouzrokh *et al.*, 2024 e Waqas e Tibary, 2025), descargas purulentas (González-Bulnes *et al.*, 2020, Al-Rawi e Hussain, 2024 e Waqas e Tibary, 2025), aderências (Rouzrokh *et al.*, 2022) e rutura dos fios quando da remoção destes dispositivos vaginais (Romano, 2004, Swelum *et al.*, 2019 e Waqas e Tibary, 2025). Os tratamentos com CIDR, independentemente da sua duração, raramente resultam na perda destes dispositivos vaginais e em vaginites (Knights *et al.*, 2001, Nogueira *et al.*, 2011, Fleisch *et al.*, 2012, Swelum *et al.*, 2018, Al-Rawi e Hussain, 2024 e Rouzrokh *et al.*, 2024), no último caso porque este tipo de dispositivo vaginal permite a drenagem das secreções vaginais (Suárez *et al.*, 2006, Rouzrokh *et al.*, 2024 e Waqas e Tibary, 2025). Nos trabalhos realizados por Quintas *et al.* (2021) e Silva *et al.* (2025), com ovelhas da raça CGB, o número de fêmeas que perderam esponjas vaginais e que apresentaram vaginites não variou em função do dispositivo

vaginal utilizado. Nas ovelhas em pastoreio, a perda de CIDRs pode ser superior à de esponjas vaginais (Rouzrokh *et al.*, 2024).

Os problemas associados às vaginites, causadas pelos tratamentos progestagênicos longos, podem ser prevenidos reduzindo o tempo de permanência das esponjas dentro da vagina (Menchaca *et al.*, 2017 e Rouzrokh *et al.*, 2024). Desta forma reduz-se a probabilidade de ocorrer inflamação e infecção (Rouzrokh *et al.*, 2024).

## 1.2. ESTIMULAÇÃO DA ATIVIDADE OVÁRICA

### 1.2.1. OVULAÇÃO

Nos tratamentos de controlo da atividade reprodutiva, as gonadotropinas exógenas iniciam a atividade hipofisária (Waqas e Tibary, 2025), controlam a secreção de LH (Abecia *et al.*, 2011, 2012, Dias *et al.*, 2020 e Skliarov *et al.*, 2021), estimulam o crescimento dos folículos (pequenos e médios) (Windorski *et al.*, 2008, Ozyurtlu *et al.*, 2010, Abecia *et al.*, 2011, 2012, Dias *et al.*, 2020, Somanjaya *et al.*, 2021, Cizmeci *et al.*, 2022, Roshan *et al.*, 2023, Deac *et al.*, 2024 e Waqas e Tibary, 2025) e a maturação folicular (Eldomany *et al.*, 2023, Roshan *et al.*, 2023 e Waqas e Tibary, 2025), promovem a esteroidogénese (Simonetti *et al.*, 1999) e o cio (Simonetti *et al.*, 1999, Abecia *et al.*, 2012, Dias *et al.*, 2020, Habeeb e Kutzler, 2021, Güner e Bilen, 2022, Quintero-Elisea *et al.*, 2022, Eldomany *et al.*, 2023, Al-Rawi e Hussain, 2024, Deac *et al.*, 2024e Walker *et al.*, 2025), antecipam e melhoram a sincronização dos cios (Simonetti *et al.*, 1999, Martinez-Ros *et al.*, 2018a, D'Avila *et al.*, 2022, Eldomany *et al.*, 2023, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025), fomentam a ovulação (Simonetti *et al.*, 1999, Azevedo *et al.*, 2006, Windorski *et al.*, 2008, Ozyurtlu *et al.*, 2010, Abecia *et al.*, 2012, Dias *et al.*, 2020, Somanjaya *et al.*, 2021, Güner e Bilen, 2022, Eldomany *et al.*, 2023 e Walker *et al.*, 2025) ou superovulações (Azevedo *et al.*, 2006, Karami *et al.*, 2012, Murphy, 2012, Vergani *et al.*, 2020, Almadaly *et al.*, 2023, Roshan *et al.*, 2023, Salama *et al.*, 2024, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025), favorecem a formação de um CL normal (Habeeb e Kutzler, 2021) e aumentam as taxas de fertilidade (Quintero-Elisea *et al.*, 2022, Al-Rawi e Hussain, 2024 e Walker *et al.*, 2025) e de prolificidade (Ashour *et al.*, 2018 e Walker *et al.*, 2025).

As gonadotropinas exógenas mais utilizadas são a Hormona Folículo-estimulante (FSH), a eCG e a Gonadotropina Coriônica humana (hCG) (Azevedo *et al.*, 2006, Valentim *et al.*, 2015b, Vergani *et al.*, 2020 e Pera, 2021). A administração de FSH, devido ao seu custo e ao trabalho associado à sua administração (durante vários dias, a intervalos de 12 horas), é realizada, quase que exclusivamente, em programas de Ovulação Múltipla e Transferência de Embriões (MOET) (Azevedo *et al.*, 2006, Valentim *et al.*, 2015b e Pera, 2021). Nos pequenos ruminantes, a eCG tem

atividade FSH e LH, particularmente da primeira (Azevedo *et al.*, 2006, Abecia *et al.*, 2011, Santolaria *et al.*, 2011, Mateus, 2014, Valentim *et al.*, 2015b, Somanjaya *et al.*, 2021 e Kuru *et al.*, 2022). Ela promove o crescimento folicular, a produção de estrogénios e a ovulação (Abecia *et al.*, 2011, Mohamad *et al.*, 2014 e Somanjaya *et al.*, 2021). Por seu turno, a hCG possui atividade FSH e LH, particularmente da segunda (Azevedo *et al.*, 2006, Mateus, 2014, Valentim *et al.*, 2015b, Fonseca *et al.*, 2017, Fernandez *et al.*, 2018, 2019 e Dias *et al.*, 2020). Ela estimula essencialmente a maturação dos folículos, a ovulação, a formação do CL e a produção de P<sub>4</sub> (Fernandez *et al.*, 2018 e Dias *et al.*, 2020).

A utilização das gonadotropinas exógenas deve ter em conta a estação do ano (Pera, 2021). Na estação reprodutiva, as mais utilizadas são a FSH, a eCG e a hCG (Pera, 2021). Elas melhoram a sincronização dosaios e aumentam a taxa de prolificidade (Scaramuzzi *et al.*, 1988). Na estação de anestro, as mais usadas são a FSH e a eCG (Azevedo *et al.*, 2006, Abecia e Forcada, 2010 e Karami *et al.*, 2012). Nesta altura, o uso destas hormonas é mesmo imprescindível (Scaramuzzi *et al.*, 1988, Abecia *et al.*, 2011, Bancheva *et al.*, 2021, Pera, 2021, Côrtes *et al.*, 2021, Almadaly *et al.*, 2023, Romano, 2024, Walker *et al.*, 2025 e Waqas e Tibary, 2025), dado que elas aumentam os níveis circulantes de gonadotropinas (Waqas e Tibary, 2025), promovem os pulsos pré-ovulatórios de FSH e de LH (Bancheva *et al.*, 2021) e melhoram a taxa de fertilidade (Menchaca e Rubianes, 2004, García-Pintos e Menchaca, 2016 e Al-Rawi e Hussain, 2024). Todavia, a super-estimulação ovárica pode aumentar rapidamente o tamanho dos folículos e consequentemente os níveis circulantes de E<sub>2</sub>, o que diminui a taxa de fertilidade (Al-Rawi e Hussain, 2024).

A administração de eCG é normalmente feita quando da remoção dos dispositivos vaginais (Karagiannidis *et al.*, 2001, Bosco *et al.*, 2002, Ali, 2007, Hashim *et al.*, 2013, Martinez *et al.*, 2015, Ashour *et al.*, 2018, Martinez-Ros *et al.*, 2018a, Quintas *et al.*, 2021, Mateus *et al.*, 2022, Payan *et al.*, 2022, Quintas *et al.*, 2022, Valentim *et al.*, 2022, Myers e Kasimanickam, 2025 e Silva, 2025). Contudo, na estação de anestro ou nas malatas, a administração de gonadotropinas pode ser feita 48, 24 ou 12 horas antes (Walker *et al.*, 2025) ou quando do término do tratamento de sincronização ou de indução da atividade ovárica (Azevedo *et al.*, 2006, Mohtar *et al.*, 2014, Ezzat *et al.*, 2016, Dendena, 2017, Conradi, 2018, Fornazari, 2018 e Walker *et al.*, 2025). Quando administradas no término destes tratamentos, elas coincidem com o incremento da secreção endógena de GnRH/LH, o que aumenta a possibilidade de ocorrer a ovulação (Fornazari, 2018). Na maioria das ovelhas, o cio surge cerca de 48 horas depois da sua administração (Wheaton *et al.*, 1993, Powell *et al.*, 1996, Habeeb e Kutzler, 2021 e Skliarov *et al.*, 2021).

### 1.2.2. FORMAÇÃO DO CORPO LÚTEO

A adequada luteinização do CL é fundamental à manutenção da gestação (Allam *et al.*, 2016 e García-Pintos e Menchaca, 2016). Nas ovelhas, por volta do 15º dia pós-ovulação (Inskip e Dailey, 2005 e García-Pintos e Menchaca, 2016), a secreção uterina de PGF<sub>2α</sub> deve ser inibida para se prevenir a luteólise (García-Pintos e Menchaca, 2016). Na fase inicial da gestação, a secreção lútea de P<sub>4</sub> desempenha uma importante função paracrina sobre as células epiteliais uterinas e a tropoderme do embrião, condicionando a síntese e a ação do interferon-tau e da PGF<sub>2α</sub>, assim como a expressão dos recetores uterinos de oxitocina (Fernandez *et al.*, 2018 e Côrtes *et al.*, 2021). Estes efeitos são essenciais à ocorrência do processo de reconhecimento da gestação (Côrtes *et al.*, 2021).

A P<sub>4</sub>, também designada de “hormona da gestação”, é a principal hormona responsável por preparar o útero para a implantação e por manter o miométrio quiescente (Rahman, 2006 e Al-Rawi e Hussain, 2024). Ela permite a proliferação do endométrio e prepara-o para receber o embrião (Al-Rawi e Hussain, 2024). Por outro lado, ela favorece a implantação (Allam *et al.*, 2016, García-Pintos e Menchaca, 2016, Fernandez *et al.*, 2018, 2019, Côrtes *et al.*, 2021 e Al-Rawi e Hussain, 2024), dado que promove a supressão das respostas imunitárias maternas adversas e, conseqüentemente, melhora a recetividade do endométrio relativamente ao blastocisto (Allam *et al.*, 2016, García-Pintos e Menchaca, 2016, Fernandez *et al.*, 2018, 2019 e Al-Rawi e Hussain, 2024). Nos pequenos ruminantes, durante o período pré-implantação, o mal funcionamento lúteo é uma importante causa de perda embrionária (pode atingir os 60%) (Inskip e Dailey, 2005, García-Pintos e Menchaca, 2016, Fernandez *et al.*, 2018, 2019, Vergani *et al.*, 2020 e Côrtes *et al.*, 2021). Nos caprinos, esta é mesmo a principal causa de infertilidade (Côrtes *et al.*, 2021). Nas primeiras semanas de gestação, a produção lútea de P<sub>4</sub> é ainda necessária à placentação (Allam *et al.*, 2016, García-Pintos e Menchaca, 2016 e Fernandez *et al.*, 2018, 2019). De igual modo, a P<sub>4</sub> é essencial ao desenvolvimento embrionário precoce, pelo que baixos níveis circulantes desta hormona implicam perdas embrionárias precoces e o não estabelecimento da gestação (Fernandez *et al.*, 2018, Côrtes *et al.*, 2021 e Al-Rawi e Hussain, 2024).

Para aumentar a taxa de sobrevivência embrionária pós-tratamentos de sincronização/indução de cios, alguns autores advogam a aplicação de tratamentos hormonais que melhorem a função lútea (levando, inclusive, à formação de CL acessórios) e a secreção de P<sub>4</sub> (Allam *et al.*, 2016, García-Pintos e Menchaca, 2016, Fernandez *et al.*, 2018, Vergani *et al.*, 2020, Côrtes *et al.*, 2021, Somanjaya *et al.*, 2021 e Fernández *et al.*, 2024), no início (Fernandez *et al.*, 2018, 2019 e Fernández *et al.*, 2024) ou no fim da fase lútea (Fernandez *et al.*, 2018, 2019). Para o efeito são administradas hormonas luteotróficas, como a GnRH, a eCG ou a hCG (Allam *et*

*al.*, 2016, Fernandez *et al.*, 2018, 2019 e Vergani *et al.*, 2020). Todavia, os resultados têm sido muito variáveis, contraditórios e frequentemente inconclusivos (Fernandez *et al.*, 2018, 2019).

Nas ovelhas e nas cabras em anestro, o mal funcionamento do primeiro CL pode ser drasticamente reduzido ou mesmo evitado, submetendo-as a um tratamento prévio com P<sub>4</sub>/progestagénios (Fernandez *et al.*, 2018, 2019 e Côrtes *et al.*, 2021). Todavia, se nos protocolos de indução da atividade ovárica forem utilizados elevados níveis exógenos de P<sub>4</sub>, eles alteram a síntese de E<sub>2</sub> e conseqüentemente baixam a taxa de fertilidade (Côrtes *et al.*, 2021). Adicionalmente, os elevados níveis de P<sub>4</sub> em circulação e na genitália tubular (vagina, cérvix, corpo uterino, cornos uterinos e ovidutos) prejudicam a futura função lútea e reduzem a taxa de fertilidade (Côrtes *et al.*, 2021).

### **1.2.3. LIMITAÇÕES À ESTIMULAÇÃO DA ATIVIDADE OVÁRICA**

O uso frequente de gonadotropinas coriônicas pode induzir a formação de anticorpos específicos, o que origina um estado refratário às mesmas e conseqüentemente uma diminuição da taxa de fertilidade (Motlomelo *et al.*, 2002, Maurel *et al.*, 2003, Azevedo *et al.*, 2006, Martemucci e D'Alessandro, 2011, Fonseca *et al.*, 2017 e Güner e Bilen, 2022). Estes anticorpos podem atrasar o pico pré-ovulatório de LH e a ovulação e conduzir a baixas taxas de fertilidade (Hervé *et al.*, 2004 e Fonseca *et al.*, 2017).

### **1.2.4. eCG**

A eCG é a gonadotropina mais utilizada nos programas de sincronização/indução de cio (Hameed *et al.*, 2021, Skliarov *et al.*, 2021, Yu *et al.*, 2022 e Romano, 2024). É uma glicoproteína segregada pelo trofoblasto do embrião da égua (Abecia *et al.*, 2011, 2012, Fonseca *et al.*, 2017, Akbulut e Kutlu, 2024 e Al-Rawi e Hussain, 2024). Tal como já foi anteriormente referido, ela tem atividade FSH e LH, particularmente da primeira (Murphy e Martinuk, 1991, Azevedo *et al.*, 2006, Abecia *et al.*, 2011, Santolaria *et al.*, 2011, Mateus, 2014, Allam *et al.*, 2016, García-Pintos e Menchaca, 2016, Fonseca *et al.*, 2017, Somanjaya *et al.*, 2021, Kuru *et al.*, 2022, Yu *et al.*, 2022 e Akbulut e Kutlu, 2024). Liga-se a receptores foliculares de FSH e de LH e a receptores lúteos de LH (Murphy e Martinuk, 1991, Abdulkareem, 2002, Neto, 2009, Murphy, 2012, García-Pintos e Menchaca, 2016 e Dias *et al.*, 2020). Ela promove o recrutamento de novos folículos (Kuru *et al.*, 2022), acelera (Bancheva *et al.*, 2021 e Berean *et al.*, 2021) o desenvolvimento folicular (Bosco *et al.*, 2002, Ali, 2007, Bancheva *et al.*, 2021, Kuru *et al.*, 2022 e Payan *et al.*, 2022), aumenta a secreção de E<sub>2</sub> (Akbulut e Kutlu, 2024), previne a regressão folicular (Bosco *et al.*, 2002, Bancheva *et al.*, 2021 e Payan *et al.*, 2022), melhora a expressão do cio (Hameed *et al.*, 2021 e Payan *et al.*,

2022), estimula o pulso pré-ovulatório de LH (Al-Rawi e Hussain, 2024), sincroniza a ovulação (Berean *et al.*, 2021, Yu *et al.*, 2022, Daham *et al.*, 2023 e Al-Rawi e Hussain, 2024), aumenta o número de folículos que ovulam (Bancheva *et al.*, 2021), promove a formação de um CL competente (Baldassare e Karatzas, 2004, Murphy, 2012, Núñez-Olivera *et al.*, 2014, Mateus, 2014, Allam *et al.*, 2016 e García-Pintos e Menchaca, 2016) e aumenta as taxas de fertilidade (Bosco *et al.*, 2002, Ali, 2007, Berean *et al.*, 2021, Payan *et al.*, 2022 e Walker *et al.*, 2025) e, eventualmente, de prolificidade (dependendo da dose) (Bosco *et al.*, 2002, Ali, 2007, Yu *et al.*, 2022, Al-Rawi e Hussain, 2024 e Walker *et al.*, 2025).

Nas ovelhas, a eCG é normalmente administrada através de uma injeção única (Forcada *et al.*, 2011, Santolaria *et al.*, 2011, Alhimaidi *et al.*, 2023, Al-Rawi e Hussain, 2024 e Myers e Kasimanickam, 2025), no sentido de reduzir a variação temporal da expressão do cio e da ovulação (Cueto *et al.*, 2020 e Alhimaidi *et al.*, 2023). Nestas fêmeas, a semivida da eCG é longa – de 21 (Martinuk *et al.*, 1991 e Murphy, 2012), até 72 (Murphy e Martinuk, 1991 e Mateus, 2014), 118-123 (Somanjaya *et al.*, 2021) ou 144 horas (Abdulkareem, 2002) –, devido à glicosilação (processo enzimático de ligação de açúcares a moléculas orgânicas) extensiva da sua molécula (45%) (Murphy, 2012 e García-Pintos e Menchaca, 2016) e à sua elevada concentração em ácido siálico (Murphy e Martinuk, 1991, Abdulkareem, 2002, Hafez *et al.*, 2004, Mateus, 2014 e García-Pintos e Menchaca, 2016).

A dose de eCG a administrar deve ter em conta: a idade, a raça, a estação do ano, o local, o estado nutricional, a CC, o intervalo pós-parto, o resultado pretendido (ovulação ou superovulação), entre outros fatores (Abecia *et al.*, 2012, Moakhar *et al.*, 2012, Fernandez *et al.*, 2018, Bancheva *et al.*, 2021, Quintero-Elisea *et al.*, 2022, Daham *et al.*, 2023, Akbulut e Kutlu, 2024, Romano, 2024 e Waqas e Tibary, 2025).

#### 1.2.4.1. Raça

A raça afeta a resposta à administração de eCG (Purdy *et al.*, 2020, Quintero-Elisea *et al.*, 2022 e Rosham *et al.*, 2023). As ovelhas de raças mais sazonais devem receber doses mais elevadas de eCG (Bancheva *et al.*, 2021). De igual modo, as ovelhas racialmente maiores devem ser tratadas com doses mais elevadas de eCG (Purdy *et al.*, 2020). A resposta ovulatória das ovelhas à eCG depende da genética e da predisposição fisiológica da raça, da pressão da seleção imposta à ovelha/rebanho e da dose de hormona administrada (Bradford *et al.*, 1971, Eastwood e McDonald, 1975 e Purdy *et al.*, 2020). As ovelhas com maior propensão para ovulações múltiplas devem receber maiores doses de eCG (Bradford *et al.*, 1971, Eastwood e McDonald, 1975 e Purdy *et al.*, 2020). Abecia *et al.* (2012) e Bancheva *et al.* (2021) defendem exatamente o

oposto, ou seja, que as ovelhas das raças mais prolíficas devem receber doses mais baixas de eCG. Nas raças prolíficas, o aumento da dose de eCG, de 750 para 1.500 UI, determina uma redução da taxa de prolificidade (Quirke *et al.*, 1987). Pelo contrário, nas raças não prolíficas, o aumento da dose de eCG eleva a taxa de prolificidade (Quirke *et al.*, 1987).

No México, as ovelhas de pelo, das raças Pelibuey e Blackbelly, produzem melhores taxas de fertilidade, de prolificidade e de fecundidade quando são tratadas com 200-400 UI (Quintero-Elisea *et al.*, 2011, 2022). A administração de 200-300 UI de eCG antecipa o aparecimento do cio e eleva a percentagem de ovelhas Dorper que manifestam cio, comparativamente ao que sucede nas ovelhas Pelibuey (Quintero-Elisea *et al.*, 2022). Pelo contrário, a taxa ovulatória é maior entre as ovelhas Pelibuey do que entre as ovelhas Dorper (Quintero-Elisea *et al.*, 2022). Nas ovelhas iranianas Sanjibi e Lori, a administração de 400 UI de eCG promove elevadas percentagens de fêmeas que manifestam cio (Quintero-Elisea *et al.*, 2022). Nas ovelhas iranianas da raça Chall, a administração de 550-600 UI origina boas taxas ovulatórias e de fertilidade (Moakhar *et al.*, 2012). Nas ovelhas argelina Rembi, a administração de 500 UI de eCG induz as melhores taxas de fertilidade, de prolificidade e de fecundidade (Bacha *et al.*, 2014). Nas ovelhas leiteiras iraquianas Nuaimy, a administração de 500 UI origina boas taxas de fertilidade e de prolificidade (Al-Hamedawi *et al.*, 2020). Nas ovelhas turca Kivircik, Koyuncu e Alticekic (2010) propõem que também sejam administradas 500 UI.

#### 1.2.4.2. Idade

De acordo com Moakhar *et al.* (2012), a dose de eCG a administrar a ovelhas (350-500 UI) deve ser superior à que deve ser administrada a malatas (250-300 UI). Na estação de anestro, a administração de 300 UI de eCG a ovelhas leva a que muitas manifestem cio e apresentem uma boa taxa de fertilidade (Santos-Jimenez *et al.*, 2022). Pelo contrário, nas malatas esta dose de eCG reduz a percentagem das que manifestam cio e a taxa de fertilidade (Santos-Jimenez *et al.*, 2022). Nas malatas Merino, quando comparada com a administração de 400 UI, a administração de 600 UI induz maiores taxas de fertilidade (Akbulut e Kutlu, 2024).

#### 1.2.4.3. Estação Reprodutiva vs. Estação de Anestro

A dose de eCG a administrar deve variar em função das fêmeas estarem na estação reprodutiva (300-350 UI) (Abecia *et al.*, 2011 e Moakhar *et al.*, 2012) ou de anestro (400-500 UI) (Abecia *et al.*, 2011, Moakhar *et al.*, 2012, Dias *et al.*, 2020 e Rosham *et al.*, 2023). Na estação reprodutiva, Gibbons e Cueto (2012) recomendam a administração de 250-300 UI de eCG a ovelhas da raça Merino e de 300 UI a ovelhas da raça Corriedale. Abdulkareem (2002) sugere a

administração de 400 UI. [Koyuncu e Alticekic \(2010\)](#), [Bacha et al. \(2014\)](#), [Mateus \(2014\)](#), [Fornazari \(2018\)](#), [Pera \(2021\)](#), [Mateus et al. \(2022\)](#), [Larsen \(2024\)](#) e [Silva \(2025\)](#) afirmam que a administração de 500 UI produz boas taxas reprodutivas.

Na estação de anestro, [Aköz et al. \(2006\)](#) propõem a administração de 700 UI a ovelhas cruzadas de Akkaraman para aumentar as suas taxas de fertilidade, de prolificidade e de fecundidade. Nas ovelhas turcas Kangal, a administração de 600 UI é tão eficaz quanto a administração de 400 UI, no que respeita à percentagem de fêmeas que manifestam cio e às taxas de fertilidade e de prolificidade ([Takci et al., 2023](#)). A administração de doses inferiores a 400 UI diminui a taxa de prolificidade ([Nosrati et al., 2011](#), [Quintero-Elisea et al., 2011](#) e [Roshan et al., 2023](#)). Outros autores não puderam confirmar este efeito ([Roshan et al., 2023](#)). A administração de 300 UI de eCG reduz a eficácia da indução do cio e a taxa de fertilidade ([Roshan et al., 2023](#)). [Hristova \(2007\)](#) e [Bancheva et al. \(2021\)](#) recomendam a administração de 400-500 UI. No fim da estação de anestro, [Hristova et al. \(2011\)](#) sugerem a administração de 500 UI. Durante o período de transição entre as estações de anestro e reprodutiva, [Zonturlu et al. \(2011\)](#) afirmam que a administração de 500, de 400 ou de 300 UI não altera as taxas de fertilidade e de prolificidade.

#### 1.2.4.4. Dose

Nas ovelhas, a dose de eCG a administrar deve variar entre 100-400 ([Hameed et al., 2021](#)), 100-500 ([Romano, 2024](#)), 200-400 ([Larsen, 2024](#)), 250-500 ([Abecia et al., 2011](#) e [Santolaria et al., 2011](#)), 250 a 750 ([Abecia et al., 2012](#), [Pera, 2021](#) e [Waqas e Tibary, 2025](#)), 300-600 ([Daham et al., 2023](#)), 500-600 ([Forcada et al., 2011](#)) ou 700-1.200 UI ([Skliarov et al., 2021](#)). Doses elevadas de eCG (500-700 UI) podem aumentar a taxa ovulatória ([Samartzi et al., 1995](#), [Moakhar et al., 2012](#) e [Hameed et al., 2021](#)) e as taxas de fertilidade ([Botha et al., 1975](#), [Timurkan e Yildiz, 2005](#) e [Moakhar et al., 2012](#)), de prolificidade ([Botha et al., 1975](#), [Timurkan e Yildiz, 2005](#) e [Moakhar et al., 2012](#)) e de fecundidade ([Hameed et al., 2021](#)). O mesmo acontece quando são administradas 700-750 UI ([Waqas e Tibary, 2025](#)). Contudo, as elevadas doses de eCG podem antecipar a libertação de múltiplos folículos e aumentar a taxa de mortalidade embrionária ([Almadaly et al., 2023](#)). A administração de baixas doses de eCG (100-400 ou 300-400 UI) tende a reduzir o intervalo entre a sua administração e o aparecimento do cio ([Botha et al., 1975](#), [Barrett et al., 2004](#), [Moakhar et al., 2012](#), [Hameed et al., 2021](#) e [Akbulut e Kutlu, 2024](#)). Por outro lado, elas aumentam o número e o tamanho dos folículos dominantes, mas não alteram significativamente a taxa ovulatória ([Bartlewski et al., 1998, 1999a,b](#), [Moakhar et al., 2012](#) e [Akbulut e Kutlu, 2024](#)). Na estação de anestro, a administração de doses mais reduzidas de eCG

é muito interessante (Akbulut e Kutlu, 2024 e Waqas e Tibary, 2025). De acordo com Waqas e Tibary (2025), a administração de 300 UI de eCG faz com que a percentagem de ovelhas que entram em cio e a taxa de fertilidade sejam iguais às conseguidas pós-administração de 600 UI.

A administração de doses de 1.000-2.000 UI causa superestimulação ovárica (Bancheva *et al.*, 2021 e Hameed *et al.*, 2021) e pode induzir o desenvolvimento de um grande número de folículos grandes (8-10 folículos) e dos que ovulam (6-8 folículos) (González-Bulnes *et al.*, 1999). Devido à prolongada semivida da eCG, os níveis circulantes de E<sub>2</sub> permanecem elevados, mesmo no decurso da fase lútea do ciclo, o que diminui a taxa de fertilidade (Moakhar *et al.*, 2012 e Hameed *et al.*, 2021). Consequentemente, a administração de elevadas doses de eCG pode ter efeitos deletérios sobre a secreção das hormonas sexuais (Forcada *et al.*, 2011), o crescimento folicular (formação de folículos persistentes) (Almadaly *et al.*, 2023), a duração do cio (Romano, 2024), a ovulação (Forcada *et al.*, 2011), o funcionamento dos ovidutos (Driancourt e Fry, 1992 e Almadaly *et al.*, 2023), a fecundação (Bancheva *et al.*, 2021), o início do desenvolvimento embrionário (Almadaly *et al.*, 2023), o transporte dos embriões (Almadaly *et al.*, 2023), a implantação (Bancheva *et al.*, 2021) e as taxas de fertilidade (Scaramuzzi *et al.*, 1988, Driancourt e Fry, 1992, Forcada *et al.*, 2011 e Almadaly *et al.*, 2023), de recolha de embriões e de viabilidade dos mesmos (Forcada *et al.*, 2011, Almadaly *et al.*, 2023 e Waqas e Tibary, 2025). É ainda frequente originarem a formação de quistos foliculares (Bancheva *et al.*, 2021). Adicionalmente, elas podem aumentar os problemas inerentes aos partos gemelares (Simonetti *et al.*, 2002 e Romano, 2024), nomeadamente, elevando a mortalidade embrionária e fetal (Simonetti *et al.*, 2002).

#### 1.2.4.5. Momento da Administração de eCG

A fase do ciclo éstrico em que as ovelhas se encontram quando da administração de eCG condiciona a sua resposta ao tratamento de controlo reprodutivo (Ali, 2007, Menchaca *et al.*, 2009 e Quintero-Elisea *et al.*, 2022). Presentemente, a eCG é maioritariamente administrada quando da remoção dos dispositivos vaginais (Karagiannidis *et al.*, 2001, Bosco *et al.*, 2002, Ali, 2007, Hashim *et al.*, 2013, Martinez *et al.*, 2015 e Payan *et al.*, 2022). Menchaca *et al.* (2009) afirmam que este procedimento é controverso, dado que ele pode afetar a atividade ovárica pós-ovulação. De acordo com Gordon (1997) e Ali (2007), a resposta aos tratamentos superovulatórios tende a ser superior quando a eCG é administrada alguns dias antes da remoção dos dispositivos vaginais. Num trabalho levado a cabo com ovelhas da raça Dorper, Zeleke *et al.* (2005) comprovou que a administração de eCG, 24 horas antes do fim do tratamento de sincronização de cios, aumenta a taxa de prolificidade em 20%. Nas ovelhas mexicanas das

raças Dorper e Pelibuey, a administração de 200 UI de eCG, 24 horas antes da remoção dos dispositivos vaginais, relativamente à administração da mesma hormona no momento da remoção dos dispositivos vaginais, antecipa o aparecimento do cio (Quintero-Elisea *et al.*, 2022). Num trabalho realizado por Sirjani *et al.* (2011), com ovelhas iranianas Afshari, a administração de eCG, 24 horas antes ou no dia da remoção das esponjas vaginais, não altera a taxa de fertilidade. Num trabalho efetuado com ovelhas mexicanas Barbados Barriga Negra, Martínez-Tinajero *et al.* (2007) verificaram que a administração de eCG, 48 horas antes e quando da remoção dos dispositivos vaginais, produz boas taxas de fertilidade (66,6% vs. 80,0%). Num trabalho em que foram usadas ovelhas egípcias Ossimi, Ali (2007) constatou que a administração de eCG, 48 horas antes da remoção dos dispositivos vaginais, antecipa o início do cio e a ovulação, dado que promove o desenvolvimento precoce de folículos grandes. Noutro trabalho desenvolvido com ovelhas iranianas Shal, Ferdowsi *et al.* (2020) observou que a administração de eCG, 48 e 24 horas antes da remoção dos dispositivos vaginais, aumenta a percentagem de fêmeas que manifestam cio.

O momento de administração da eCG condiciona o momento de realização da IATF (Bancheva *et al.*, 2021). De acordo com Hristova *et al.* (2011), se a eCG for administrada 48 horas antes da remoção dos dispositivos vaginais, a IATF deve ser feita 36-48 horas pós-termino do tratamento. Se ela for administrada quando da remoção dos dispositivos vaginais, a IATF deve ser feita 48-60 horas depois de terminar o tratamento (Bancheva *et al.*, 2021). Nestas condições, Palacios *et al.* (2022) sugerem que a IATF seja feita 56 horas depois da remoção dos dispositivos vaginais. Faigl *et al.* (2012), Cseh *et al.* (2014), Mateus (2014), Valentim *et al.* (2016), Conradi (2018), Fornazari (2018), Pera (2021), Quintas *et al.* (2021), Mateus *et al.* (2022), Valentim *et al.* (2022) e Silva (2025) indicam que a IATF deve ser feita 55 horas pós-remoção dos dispositivos vaginais, ou 15-17 horas pós-começo do cio (Faigl *et al.*, 2012). Se se optar por uma inseminação dupla, estas devem ser feitas 50 e 60 horas depois de se removerem os dispositivos vaginais (Cseh *et al.*, 2012).

#### 1.2.4.6. Duração do Tratamento de Controlo da Atividade Ovária

Nos tratamentos longos com P<sub>4</sub>/progestagénios, a administração de eCG é um complemento essencial (Walker *et al.*, 2025). Ela antecipa o cio, melhora a sincronização dos cios (Boland *et al.*, 1981, Husein *et al.*, 1998 e Walker *et al.*, 2025) e aumenta as taxas ovulatória (Nöel *et al.*, 1994), de fertilidade e de fecundidade (Langford *et al.*, 1983 e Walker *et al.*, 2025).

Nos tratamentos curtos com P<sub>4</sub>/progestagénios, a importância da administração de eCG é equívoca (Walker *et al.*, 2025). Os tratamentos curtos de controlo da atividade ovária dão,

normalmente, origem à formação de um grupo mais uniforme de folículos ovulatórios, o que torna a administração de eCG menos vantajosa (Walker *et al.*, 2025). Contudo, a administração desta hormona, quando da remoção dos dispositivos vaginais, antecipa o cio em 5-17 horas (Martinez-Ros *et al.*, 2018a). Nos tratamentos curtos em que são utilizadas duas administrações de PGF<sub>2α</sub>, a eCG não melhora a taxa de fertilidade (Olivera-Muzante *et al.*, 2011 e Walker *et al.*, 2025).

#### 1.2.4.7. Consequências da Administração Repetida de eCG

A administração repetida de eCG pode dar origem à formação de anticorpos contra esta hormona (Forcada *et al.*, 2011, Santolaria *et al.*, 2011, Palacios *et al.*, 2022 e Romano, 2024), que atrasam o cio e o pulso pré-ovulatório de LH (Santolaria *et al.*, 2011), alteram o momento da ovulação (Romano, 2024) e reduzem a taxa de fertilidade (Santolaria *et al.*, 2011) quando da IATF (Romano, 2024). Após a aplicação de três tratamentos superovulatórios, Forcada *et al.* (2011) observaram uma diminuição significativa das taxas de fertilidade, de viabilidade e de congelabilidade dos embriões.

### 1.3. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

A técnica de IA consiste na colocação de sémen no trato genital da fêmea sem a intervenção direta do macho, ou seja, com recurso a instrumentos (Robertson, 2005, Granados *et al.*, 2006, Morrell, 2011, Faigl *et al.*, 2012, Valentim *et al.*, 2016, Conradi, 2018, Gibbons *et al.*, 2019 e Siqueira, 2023), possibilitando a fecundação e a produção de uma ou mais crias (Siqueira, 2023). O sémen a inseminar pode ser usado fresco (puro ou diluído), refrigerado (diluído) ou congelado (diluído) (Ferra e Sereno, 2006, Palacios, 2010, Morrell, 2011, Leão, 2017, Gibbons *et al.*, 2019, Bustani e Baiee, 2021 e El Almiri e Rahim, 2024).

#### 1.3.1. SÉMEN REFRIGERADO

O principal método de preservação do sémen no estado líquido é a refrigeração a 15 (Cseh *et al.*, 2012, Faigl *et al.*, 2012, Gibbons *et al.*, 2019, Bustani e Baiee, 2021 e Rizkallah *et al.*, 2022), 4-5 (Cseh *et al.*, 2012, Faigl *et al.*, 2012, Gibbons *et al.*, 2019, Bustani e Baiee, 2021 e Rizkallah *et al.*, 2022) ou 0°C (Zamiri, 2020, Rizkallah *et al.*, 2022 e Saha *et al.*, 2022). O uso de sémen refrigerado tem a vantagem de ser economicamente viável, fácil de manusear, poder ser utilizado em inseminações cervicais (Sorensen Jr., 1979, Anel *et al.*, 2006, Faigl *et al.*, 2012, Gibbons *et al.*, 2019 e Saha *et al.*, 2022), em condições de campo (Faigl *et al.*, 2012), e produzir resultados aceitáveis e promissores (Gibbons *et al.*, 2019). As doses a inseminar contêm um

número relativamente baixo de SPZ (Faigl *et al.*, 2012). A principal desvantagem da preservação do sémen refrigerado é a sua limitada longevidade (Faigl *et al.*, 2012 e Rizkallah *et al.*, 2022), o que implica que os rebanhos a inseminar têm de estar “relativamente” próximo do local de recolha e de processamento do sémen (Sorenson Jr., 1979, Anel *et al.*, 2006, Faigl *et al.*, 2012 e Rizkallah *et al.*, 2022). Atualmente, a proximidade espacial é relativa, dado que os meios de transporte e os equipamentos de processamento e de preservação das doses seminais refrigeradas possibilitam a IA a maiores distâncias (Morrell, 2011).

#### 1.3.1.1. TEMPERATURAS DE PRESERVAÇÃO DO SÉMEN DILUÍDO

Depois de recolhido, analisado e diluído, o sémen deve ser sujeito a uma redução lentamente, mas progressiva da sua temperatura até aos 15 (Cseh *et al.*, 2012, Zamiri, 2020, Bustani e Baiee, 2021, Atigui e Chniter, 2022 e Rizkallah *et al.*, 2022), 4-5 (Cseh *et al.*, 2012, Faigl *et al.*, 2012, Bustani e Baiee, 2021, Atigui e Chniter, 2022, Rizkallah *et al.*, 2022 e El Almiri e Rahim, 2024) ou 0°C (Zamiri, 2020, Rizkallah *et al.*, 2022 e Saha *et al.*, 2022). O abaixamento da temperatura até aos 4-5°C deve ser feito durante 1,5-2,0 horas (Cseh *et al.*, 2012 e Hameed *et al.*, 2024). Esta redução da temperatura tem por objetivo diminuir o metabolismo basal (Faigl *et al.*, 2012, Bustani e Baiee, 2021 e Atigui e Chniter, 2022) e prolongar a longevidade dos SPZ até ao momento da IA (Faigl *et al.*, 2012 e Rizkallah *et al.*, 2022). Durante o processo de refrigeração devem-se evitar flutuações rápidas da temperatura (Faigl *et al.*, 2012, Rajabi-Toustani *et al.*, 2021, El Almiri e Rahim, 2024 e Sevilla *et al.*, 2025), que resultam na diminuição irreversível da motilidade espermática (Rajabi-Toustani *et al.*, 2021), em lesões membranares e no ADN (Rajabi-Toustani *et al.*, 2021) e na perda de poder fecundante (Palacios *et al.*, 2022).

A perda de poder fecundante depende da temperatura de armazenamento do sémen refrigerado (Faigl *et al.*, 2012, Saha *et al.*, 2022 e Hameed *et al.*, 2024). Segundo O’Hara *et al.* (2010), o sémen refrigerado a 15°C mantém o seu poder fecundante durante menos tempo do que o refrigerado a 5°C. Quando conservado a 15°C, o sémen refrigerado deve ser utilizado no prazo de 6-8 (Alvarez *et al.*, 2019), 8-10 (Cseh *et al.*, 2012), 8-12 (Faigl *et al.*, 2012, Gibbons *et al.*, 2019 e El Almiri e Rahim, 2024), 12-24 (Rajabi-Toustani *et al.*, 2021) ou 24 horas pós-colheita (Rizkallah *et al.*, 2022), dado que o seu poder fecundante diminui progressivamente durante o período de armazenamento (Cseh *et al.*, 2012 e Faigl *et al.*, 2012). O ritmo de perda do poder fecundante é de 10-35%/dia (Cseh *et al.*, 2012, Faigl *et al.*, 2012 e Rizkallah *et al.*, 2022). Enquanto que o sémen refrigerado a 23°C tem de ser inseminado até 24 horas pós-colheita, o sémen refrigerado a 4°C pode ser inseminado até 72 horas (Wusiman *et al.*, 2012, Mehr *et al.*, 2013 e Saha *et al.*, 2022). Bülbül *et al.* (2024) e El Almiri e Rahim (2024) referem que o sémen

preservado a 5°C mantém o seu poder fecundante durante 24-48 horas. Por seu turno, *O'Hara et al. (2010)* e *Bustani e Baiee (2021)* verificaram que o sémen armazenado a 5°C mantém uma motilidade e uma viabilidade espermática aceitáveis até 72 horas. Outros autores afirmam que a qualidade dos SPZ (motilidade total, motilidade progressiva, viabilidade e integridade do acrossoma) é superior quando o sémen é conservado a 15°C durante 48 horas (*Mata-Compuzano et al., 2017* e *Gibbons et al., 2019*).

#### 1.3.1.2. DILUIDORES SEMINAIS

Os diluidores seminais devem proteger e preservar os SPZ durante o processamento e o armazenamento do sémen (*Paulenz et al., 2002* e *Maksimovic et al., 2018*). Eles devem criar condições favoráveis ao prolongamento do tempo de vida dos SPZ e, desta forma, preservar a sua capacidade fertilizadora (*Maksimovic et al., 2018*). Contudo, a diluição (*El Almiri e Rahim, 2024*) e a refrigeração do sémen originam a perda de poder fecundante (*Gibb e Aitken, 2016*, *Gürler et al., 2016*, *Alvarez et al., 2019*, *Rajabi-Toustani et al., 2021*, *El Almiri e Rahim, 2024* e *Hameed et al., 2024*), quando ele é armazenado por um período de tempo superior a 24 horas (*Zamiri, 2020* e *Rajabi-Toustani et al., 2021*).

A qualidade do sémen diminui quando ele é refrigerado (*Santolaria et al., 2011* e *Rizkallah et al., 2022*). Os SPZ dos carneiros são particularmente sensíveis ao choque ao frio (*Muiño-Blanco et al., 2008*, *Santolaria et al., 2011*, *Mehr et al., 2013*, *Rajabi-Toustani et al., 2021* e *Rizkallah et al., 2022*), devido à baixa relação entre colesterol:fosfolípidos das suas membranas (*Rizkallah et al., 2022*). As baixas temperaturas promovem alterações físicas e químicas nas membranas dos SPZ, que lhes causam lesões morfológicas e funcionais e mesmo a morte (Figura 4) (*Zamiri, 2020*, *Rajabi-Toustani et al., 2021* e *El Almiri e Rahim, 2024*). A estrutura das membranas plasmática e acrossómica externa são as mais sensíveis às baixas temperaturas (*Zamiri, 2020*). O choque ao frio causa o enfraquecimento do sistema antioxidante do plasma seminal (*Szymanowicz et al., 2019*, *Zamiri, 2020*, *Abdillah et al., 2021* e *El Almiri e Rahim, 2024*), aumenta a síntese e a sensibilidade dos SPZ às espécies reativas de oxigénio (ROS) (*Santolaria et al., 2011*, *Gibb e Aitken, 2016*, *Gürler et al., 2016*, *Alvarez et al., 2019*, *Zamiri, 2020*, *Abdillah et al., 2021*, *Rizkallah et al., 2022*, *Rahim et al., 2023*, *El Almiri e Rahim, 2024* e *Sevilla et al., 2025*) e a perda de função (*Santolaria et al., 2011* e *Gibbons et al., 2019*), de motilidade (*Santolaria et al., 2011*, *Cseh et al., 2012*, *Faigl et al., 2012*, *Rajabi-Toustani et al., 2021*, *Rizkallah et al., 2022*, *El Almiri e Rahim, 2024* e *Hameed et al., 2024*), de viabilidade (*Alvarez et al., 2019*, *El Almiri e Rahim, 2024* e *Hameed et al., 2024*), de integridade das membranas (*Santolaria et al., 2011*, *Cseh et al., 2012*, *Faigl et al., 2012*, *Gibbons et al., 2019*, *Rajabi-Toustani et al., 2021*, *El Almiri e Rahim,*

2024 e Hameed *et al.*, 2024) e do ADN (ácido desoxirribonucleico) (Santolaria *et al.*, 2011, Rajabi-Toustani *et al.*, 2021, El Almiri e Rahim, 2024 e Sevilla *et al.*, 2025) e do poder fecundante dos SPZ (El Almiri e Rahim, 2024 e Sevilla *et al.*, 2025). A sobrevivência (Santolaria *et al.*, 2011, Cseh *et al.*, 2012 e Faigl *et al.*, 2012) e a velocidade de transporte dos SPZ refrigerados no trato genital feminino é inferior à dos SPZ frescos (Faigl *et al.*, 2012, Gibbons *et al.*, 2019 e Bancheva *et al.*, 2021). A refrigeração do sémen diluído pode ainda antecipar a capacitação espermática e a reação acrossômica, reduzindo a viabilidade e a longevidade espermática (Bergeron e Manjunath, 2006, Cseh *et al.*, 2012, Manjunath, 2012, Zamiri, 2020 e Sevilla *et al.*, 2025). A fecundação com SPZ “envelhecidos” aumenta a taxa de mortalidade embrionária precoce (Santolaria *et al.*, 2011 e Cseh *et al.*, 2012). Para contrariar estes efeitos da refrigeração sobre a função celular dos SPZ e o balanço oxidativo do sémen diluído, vários trabalhos têm sido realizados no sentido de incorporar diferentes biomoléculas antioxidantes aos diluidores seminais (Cseh *et al.*, 2012, Maksimovic *et al.*, 2018, El Almiri e Rahim, 2024 e Sevilla *et al.*, 2025).

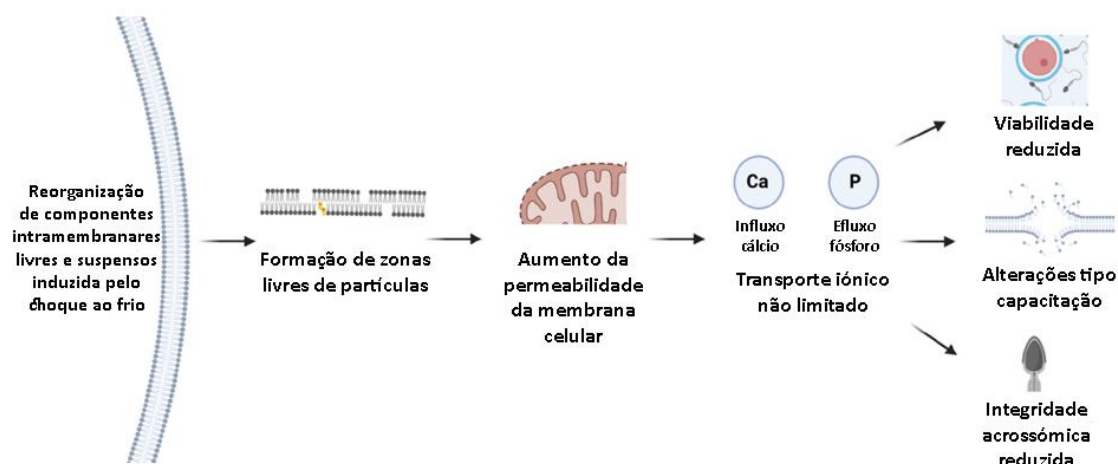


Figura 4 – Cascata de lesões de membrana induzidas pelo choque ao frio, quando o sémen de carneiro é preservado a menos de 18°C (Rizkallah *et al.*, 2022).

Os diluidores seminais devem nutrir, garantir um pH adequado, ter efeito tampão e promover uma boa osmolaridade ao sémen diluído (Salamon e Maxwell, 2000, Szymanowicz *et al.*, 2019 e Zamiri, 2020). Por outro lado, eles devem proteger os SPZ do choque ao frio (Manjunath, 2012, Akal *et al.*, 2014, Konyak *et al.*, 2018, Zamiri, 2020 e Sevilla *et al.*, 2025). Na preservação de sémen diluído refrigerado são normalmente utilizados diluidores à base de gema de ovo (20%) (Bergeron e Manjunath, 2006, Bergeron *et al.*, 2007, Câmara *et al.*, 2011, Manjunath, 2012, Akal *et al.*, 2014, Fang *et al.*, 2015, Plante *et al.*, 2015, Maksimovic *et al.*, 2018, Rateb, 2018, Amini *et al.*, 2019, Abadjieva *et al.*, 2020, Zamiri, 2020, Bashawat *et al.*, 2021 e Sevilla *et al.*, 2025), de lecitina de soja (Maksimovic *et al.*, 2018 e Sevilla *et al.*, 2025) e/ou de

leite (leite inteiro, leite desnatado e leite ultrapasteurizado) (Paulenz *et al.*, 2002, Fernandez-Abella *et al.*, 2003, Bergeron e Manjunath, 2006, Bergeron *et al.*, 2007, Kulaksiz *et al.*, 2012, Manjunath, 2012, Plante *et al.*, 2015, Maksimovic *et al.*, 2018, Galarza *et al.*, 2020, Zamiri, 2020, Bashawat *et al.*, 2021, Hameed *et al.*, 2024 e Sevilla *et al.*, 2025), que minimizam a perda de lípidos que compõem a membrana plasmática dos SPZ, promovida pelas proteínas de ligação aos fosfolípidos (BSPs) presentes no plasma seminal (Bergeron e Manjunath, 2006, Bergeron *et al.*, 2007, Moura *et al.*, 2011, Plante *et al.*, 2015, Bashawat *et al.*, 2021 e Sevilla *et al.*, 2025).

#### 1.3.1.3. Proteínas Aglutinantes dos Espermatozóides

As BSPs são segregadas pelas glândulas anexas e, nos pequenos ruminantes, elas constituem 20-30% do total de proteínas presentes no plasma seminal (Moura *et al.*, 2011, Manjunath, 2012 e Pini, 2018). Estas proteínas ligam-se aos SPZ quando da ejaculação (Moura *et al.*, 2011). Elas são necessárias à ocorrência da fecundação, uma vez que participam na alteração da estrutura lipídica da membrana plasmática (diminuição da relação colesterol:fosfolípidos) dos SPZ, que permite a ocorrência da capacitação (Moura *et al.*, 2011, Manjunath, 2012, Plante *et al.*, 2015, Brito *et al.*, 2018, Pini, 2018, Bashawat *et al.*, 2021 e Sevilla *et al.*, 2025). Contudo, esta sua função torna-se deletéria no decurso do período de armazenamento do sémen refrigerado (Manjunath, 2012 e Plante *et al.*, 2015). Na verdade, as BSPs induzem o efluxo de colesterol e de fosfolípidos de colina da membrana plasmática dos SPZ, o que diminui o seu poder fecundante (Thérien *et al.*, 1998, 1999, Bergeron e Manjunath, 2006, Bergeron *et al.*, 2007, Moura *et al.*, 2011, Manjunath, 2012, Plante *et al.*, 2015, Brito *et al.*, 2018 e Pini, 2018). Baixos níveis de colesterol na membrana plasmática resultam numa menor tolerância ao choque ao frio (Darin-Bennett e White, 1977 e Manjunath, 2012).

Na monta natural, os SPZ ejaculados que entram no canal cervical nadam através do muco cervical e, em poucos minutos, entram no útero, deixando para trás o plasma seminal, incluindo parte das BSPs (Manjunath, 2012). Contudo, algumas BSPs acompanham os SPZ até ao local de fecundação (Moura *et al.*, 2011 e Plante *et al.*, 2015) e interagem com o epitélio ovidutal (Moura *et al.*, 2011). Na preservação do sémen diluído para ser inseminado, estas proteínas não são removidas do plasma seminal, mas devem ser inativadas através da rápida formação de um complexo estável com alguns componentes do diluidor seminal (Manjunath, 2012). Durante o período de armazenamento do sémen refrigerado, a gema de ovo protege os SPZ dos danos causados pelo choque ao frio (Akal *et al.*, 2014 e Zamiri, 2020), nomeadamente, pelas BSPs (Bergeron *et al.*, 2007, Manjunath, 2012 e Plante *et al.*, 2015). Os fosfolípidos, o colesterol e, particularmente, as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são os componentes da gema de ovo

responsáveis pela proteção dos SPZ (Watson, 1981, Moussa *et al.*, 2002, Bergeron e Manjunath, 2006, Bergeron *et al.*, 2007, Manjunath, 2012, Akal *et al.*, 2014, Plante *et al.*, 2015, Brito *et al.*, 2018, Zamiri, 2020, Bashawat *et al.*, 2021 e Sevilla *et al.*, 2025) e que favorecem o seu armazenamento sob a forma refrigerada (Bergeron e Manjunath, 2006, Manjunath, 2012, Plante *et al.*, 2015 e Zamiri, 2020). As LDL presentes na gema de ovo sequestram as BSPs (Figura 5) (Bergeron e Manjunath, 2006, Manjunath, 2012, Brito *et al.*, 2018 e Sevilla *et al.*, 2025), devido à afinidade química dos seus principais constituintes – fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina (Brito *et al.*, 2018). Os diluidores à base de lecitina de soja fornecem igualmente LDL que protegem as membranas dos SPZ (Konyak *et al.*, 2018, Maksimovic *et al.*, 2018 e Sevilla *et al.*, 2025).

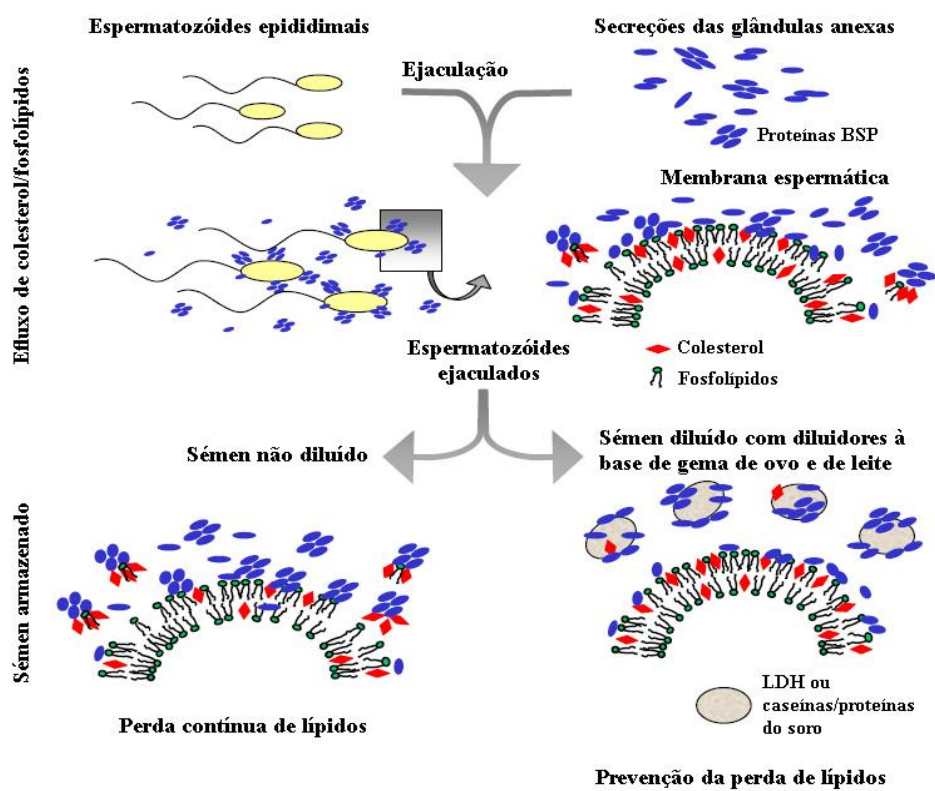


Figura 5 – Mecanismo de proteção da membrana plasmática dos SPZ exercido pelos diluidores à base de gema de ovo e de leite (Adaptado de Manjunath, 2012).

A ação protetora dos diluidores à base de leite é análoga à dos diluidores à base de gema de ovo (Manjunath, 2012, Plante *et al.*, 2015, Brito *et al.*, 2018 e Sevilla *et al.*, 2025), embora tenham menos afinidade pelas BSPs (Brito *et al.*, 2018). Nos diluidores à base de leite magro, esta ação não é exercida pelos lípidos (< 0,1%, maioritariamente triglicéridos) e pelos LDL (Bergeron *et al.*, 2007, Manjunath, 2012 e Plante *et al.*, 2015). Ela é exercida essencialmente pelas micelas (grandes agregados coloidais) de caseína ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ ) (Bergeron e Manjunath, 2006,

Bergeron *et al.*, 2007, Manjunath, 2012, Plante *et al.*, 2015 e Brito *et al.*, 2018), ainda que com a participação de outras proteínas existentes no leite ( $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina) (Manjunath, 2012, Plante *et al.*, 2015 e Sevilla *et al.*, 2025). Durante o período de armazenamento, elas impedem as BSPs de se ligarem aos SPZ, o que mantém a motilidade e a viabilidade espermática (Bergeron *et al.*, 2007, Manjunath, 2012 e Brito *et al.*, 2018). Ao que tudo indica, a lactose participa igualmente na proteção dos SPZ (Bergeron *et al.*, 2007 e Manjunath, 2012). Porque a membrana dos SPZ apresenta uma baixa permeabilidade à lactose, Watson (1990) e Manjunath *et al.* (2012) acreditam que a sua ação protetora é exercida no exterior da mesma (Figura 5).

## II – TRABALHO EXPERIMENTAL

### 1. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado em Bragança, mais precisamente na Quinta do Pinheiro Manso (Latitude 41° 80' 86" N, Longitude 6° 73' 35" W e altitude 627 metros), pertencente à ESA-IPB, entre 1 de abril e 30 de maio 2024.

As ovelhas foram alimentadas em pastoreio de prados naturais e suplementadas, em grupo, com feno de prados naturais (*ad libitum*) e 300-350 g/dia/ovelha de alimento concentrado comercial. Nos 30 dias seguintes à IA manteve-se o aporte energético/proteico da dieta.

Este ensaio teve início com a determinação da CC, segundo a tabela de classificação de [Russel et al. \(1969\)](#). Foram considerados intervalos de 0,25 pontos.

#### 1.1. ANIMAIS

Neste trabalho foram utilizadas 79 ovelhas da raça CGB (Figura 6), com idades compreendidas entre 2-8 anos. A última parição tinha ocorrido há, pelo menos, 45 dias. Foram ainda usados 2 carneiros CGB, com 4 anos de idade.



Figura 6 – Ovelhas da raça CGB utilizadas no presente estudo.

#### 1.2. AVALIAÇÃO DO ESTADO FISIOLÓGICO INICIAL

Nos primeiros 10 dias do mês de abril, a atividade ovárica das ovelhas foi avaliada através da determinação dos níveis plasmáticos de  $P_4$ . A cada 3 dias, as amostras de sangue foram recolhidas por punção da veia jugular, com o auxílio de tubos de ensaio vacuonizados e heparinizados (Figura 7)). Após centrifugação do sangue, a 3.000 rpm, durante 15 minutos,

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



Figura 7 – Recolha de amostra de sangue por punção da veia jugular (esquerda) e amostra de sangue pós centrifugação (direita).

Os níveis plasmáticos de  $P_4$  foram determinados através da técnica de radioimunoensaio (RIA). Esta foi realizada com recurso a um leitor de cintilações DPC® Gamma C12 (Bertholt Technologies, Bad Wildbad, Alemanha), segundo a técnica indicada pelo fabricante dos kits (DiaSource® ImmunoAssays, Louvain-la-Neuve, Bélgica). Os coeficientes médios de variação intra e inter-ensaio foram, respetivamente, de 7,9 e 16,2%.

Considerou-se que as ovelhas CGB estavam em anestro sazonal quando, na totalidade das amostras recolhidas, os níveis plasmáticos de  $P_4$  foram inferiores a 0,5 ng/ml.

### 1.3. TRATAMENTO APLICADO

No dia 11 de abril de 2024, as ovelhas receberam uma esponja vaginal impregnada com 20 mg de FGA (Chronogest CR®, MSD Animal Health, Portugal). Na mesma altura foram-lhes administrados intramuscularmente 100 µg de Cloprostenol (Estrumate®, MSD Animal Health, Portugal). O tratamento com  $P_4$  teve a duração de 6 dias.

Quando da remoção dos dispositivos vaginais (17 de abril de 2024), 40 ovelhas receberam uma administração intramuscular de 400 UI de eCG e as demais 39 de 500 UI de eCG (Intergonan®, Intervet, Portugal) (Figura 8).



Figura 8 – Equipamentos e hormonas utilizadas no último passo do tratamento de controlo reprodutivo.

#### 1.4. RECOLHA DE SÉMEN

Os dois carneiros dadores de sémen estavam alojados na quinta de Sta Apolónia. Por seu turno, as ovelhas estudadas estavam na quinta do Pinheiro Manso, a cerca de 9 quilómetros de distância. Os ejaculados foram recolhidos, -3 dias ( $D_{-3}$ ), -2 dias ( $D_{-2}$ ), -1 dia ( $D_{-1}$ ) e no dia ( $D_0$ ) da IA, com o auxílio de um eletroejaculador – eProvac (Minitube<sup>®</sup>, modelo MT, Tiefenbach, Alemanha) (Figura 9). Quando se começou a recolha dos ejaculados, os carneiros não ejaculavam há cerca de 3 dias.



Figura 9 – Carneiro dador de sémen (esquerda), eletroejaculador eProvac (centro) e momento de recolha de um ejaculado (direita).

Feitas as colheitas dos ejaculados, os tubos coletores foram transportados para laboratório, onde foram mantidos num banho-maria, a 37°C (VWR<sup>®</sup> VWB2 18, Leicestershire, RU). No mesmo equipamento foi previamente conservado o diluidor seminal.

#### 1.5. ANÁLISES SEMINAIS

O volume foi medido através da graduação existente nos tubos colectores (Figura 10). De seguida, os ejaculados foram diluído (1:1) com um diluidor comercial – INRA 96<sup>®</sup> (IMV, L’Aigle,

França). A concentração espermática (SPZ/ml) e a motilidade espermática foram avaliadas com o auxílio do sistema CASA da Minitube (Androvision®, Minitüb, Tiefenbach, Alemanha), constituído por um microscópio de contraste de fases Carl Zeiss Axioscope 5 (Gottngun, Alemanha), com placa aquecida (37°C) e uma câmara de vídeo (Basler camera A301b, Basler AG, Ahrensburg, Alemanha). Nas análises foram usadas lâminas Leja 20 não reutilizáveis com 4 câmaras (Leja Products, B.V., Nieuw-Venep, Holanda).

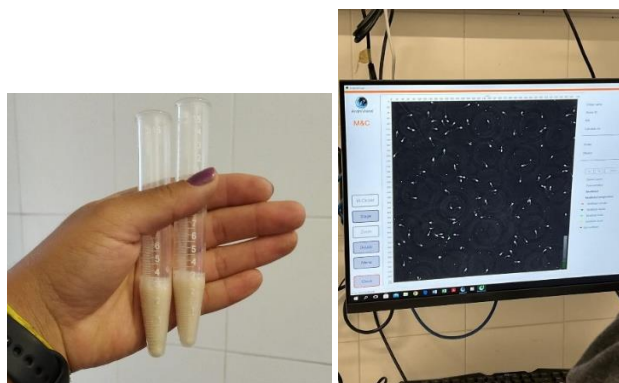


Figura 10 – Ejaculados nos tubos graduados de coleta de sémen (esquerda) e imagem da análise seminal efetuada pelo sistema CASA (direita).

Os ejaculados utilizados tinham um volume  $\geq 1,0$  ml, uma concentração  $\geq 3,0 \times 10^9$  SPZ/ml e uma motilidade  $\geq 75\%$ .

#### 1.6. DOSES SEMINAIS

Feitas as análises seminais, o volume de sémen diluído foi acertado com os valores calculados pelo programa Androvision® (Minitüb, Tiefenbach, Alemanha), de modo a garantir-se que cada palhinha de sémen contém, no mínimo,  $200 \times 10^6$  SPZ.



Figura 11 – Banho-maria refrigerado utilizado para refrigerar as amostras de sémen diluídas.

De seguida, a temperatura do sémen diluído foi reduzida, durante cerca de 120 minutos, de 37° para 5°C (-0,27°C/minuto), com recurso a um banho-maria refrigerado (Neslab® RTE 221, Newington, EUA) (Figura 11). As amostras de sémen diluído recolhidas em D<sub>-3</sub>, D<sub>-2</sub> e D<sub>-1</sub> foram preservadas a 5°C, num banho-maria refrigerado (Thermo Scientific™ AC150-A25B, Long Branch, EUA) (Figura 12) até cerca de uma hora antes da IA. O arrefecimento dos ejaculados recolhidos no D<sub>0</sub>, de 37° para 15°C foi feito ao mesmo ritmo. Após 10 minutos de repouso, todas as amostras de sémen refrigeradas foram aspiradas para palhinhas francesas de 0,25 ml e seladas com pó polivinílico. Entre o término do processo de enchimento das palhinhas e o começo da IA passaram cerca de 30 minutos.

### 1.7. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL A TEMPO FIXO

Todas as ovelhas foram inseminadas (19 de abril de 2024), independentemente de terem manifestado cio ou não, 55 + 1 horas depois da administração de eCG. As IA foram realizadas por um único inseminador, com o auxílio de um espéculo vaginal IMV (IMV, L'Aigle, França) e pistoletes médios de sémen (IMV®, L'Aigle, França) para pequenos ruminantes. Vinte e uma ovelhas foram inseminadas com sémen recolhido em D<sub>-3</sub>, 21 em D<sub>-2</sub>, 19 em D<sub>-1</sub> e 18 em D<sub>0</sub>.

A deposição do sémen foi feita sempre o mais profundamente possível sem, no entanto, forçar a passagem do pistolete pelo canal cervical (Figura 12).



Figura 12 – Inseminação artificial de uma ovelha.

### 1.8. POSIÇÃO DAS OVELHAS DURANTE A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

A IA foi realizada no ovil com as ovelhas em estação. Porém, para facilitar a observação de Os externo e para maior comodidade do inseminador, dois membros da equipa levantaram os membros posteriores das ovelhas, mantendo, no entanto, os membros anteriores sempre em contato com o solo (Figura 13).



Figura 13 – Posição da ovelha durante a realização da inseminação artificial.

### 1.9. DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

Quarenta e um dias após a IA (30 de maio) procedeu-se ao diagnóstico de gestação por ultrassonografia em tempo real, com o auxílio de um ecógrafo Mindray Z5Vet e de uma sonda abdominal multifrequência (5,0-10,0 MHz) (Figura 14).



Figura 14 – Realização do diagnóstico de gestação.

### 1.10. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

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

## 2. RESULTADOS

A idade média das ovelhas estudadas era de  $4,7 \pm 2,0$  anos (c.v. = 43,1%) (Quadro I). A idade média das ovelhas tratadas com 400 ou 500 UI de eCG (400 UI:  $4,8 \pm 2,0$  anos vs. 500 UI:  $4,5 \pm 2,1$  anos;  $P > 0,05$ ), das inseminadas com sêmen proveniente dos dois carneiros dadores (A:  $4,7 \pm 2,2$  anos vs. B:  $4,6 \pm 1,8$  anos;  $P > 0,05$ ) e das inseminadas com sêmen refrigerado nos D<sub>-3</sub>, D<sub>-2</sub>, D<sub>-1</sub> e D<sub>0</sub> dias não diferiu significativamente (D<sub>-3</sub>:  $4,7 \pm 2,0$  anos vs. D<sub>-2</sub>:  $4,7 \pm 2,0$  anos vs. D<sub>-1</sub>:  $4,5 \pm 2,2$  anos vs. D<sub>0</sub>:  $4,8 \pm 2,0$  anos;  $P > 0,05$ ).

Quadro I – Distribuição percentual das ovelhas CGB estudadas segundo três classes de idade

Idade	CGB (%) (n)
≤ 2 anos	20,3% (16)
3-6 anos	24,1% (19)
≥ 7 anos	55,7% (44)

Quando do início deste estudo, as ovelhas estudadas apresentavam uma CC média de  $3,5 \pm 0,6$  pontos (c.v. = 18,0%) (Quadro II). A CC média das ovelhas tratadas com 400 ou 500 UI de eCG (400 UI:  $3,4 \pm 0,6$  pontos vs. 500 UI:  $3,5 \pm 0,6$  pontos;  $P > 0,05$ ), das inseminadas com sêmen proveniente dos dois carneiros dadores (A:  $3,5 \pm 0,5$  pontos vs. B:  $3,4 \pm 0,7$  pontos;  $P > 0,05$ ) e das inseminadas com sêmen refrigerado durante D<sub>-3</sub>, D<sub>-2</sub>, D<sub>-1</sub> e D<sub>0</sub> (D<sub>-3</sub>:  $3,5 \pm 0,6$  pontos vs. D<sub>-2</sub>:  $3,4 \pm 0,7$  pontos vs. D<sub>-1</sub>:  $3,5 \pm 0,6$  pontos vs. D<sub>0</sub>:  $3,6 \pm 0,6$  pontos;  $P > 0,05$ ) não variou significativamente.

Quadro II – Condição corporal (CC) das ovelhas CGB segundo as classes de idade consideradas

Idade	CC (pontos) (c.v.)
≤ 2 anos	$3,9 \pm 0,2$ (6,0%)
3-6 anos	$3,4 \pm 0,6$ (18,0%)
≥ 7 anos	$3,3 \pm 0,7$ (22,0%)

Nem a idade, nem a CC afetaram o estado fisiológico inicial e a taxa de fertilidade pós-IA ( $P > 0,05$ ).

## 2.1. ESTADO FISIOLÓGICO INICIAL

Nos primeiros dez dias do mês de abril, todas as ovelhas apresentaram, em pelo menos uma toma de sangue, níveis plasmáticos de  $P_4$  superiores a 0,5 ng/ml, pelo que se considerou que todas elas estavam cíclicas.

## 2.2. CARACTERÍSTICAS SEMINAIS

Os carneiros dadores de sémen produziram ejaculados com as características indicadas no Quadro III.

Quadro III – Características do sémen produzidos pelos carneiros dadores de sémen

Dia	Macho	Volume (ml)	Concentração espermática (SPZ/ml)	Motilidade (%)
-3	A	2,2	$3.294 \times 10^6$	78,7 <sup>a,b</sup>
	B	3,5	$3.029 \times 10^6$	78,6 <sup>x</sup>
-2	A	3,1	$3.680 \times 10^6$	87,6 <sup>a,b</sup>
	B	3,0	$3.520 \times 10^6$	88,2 <sup>x</sup>
-1	A	3,3	$3.574 \times 10^6$	89,0 <sup>a,b</sup>
	B	4,0	$3.553 \times 10^6$	86,3 <sup>x</sup>
0	A	1,5	$3.445 \times 10^6$	75,2 <sup>c</sup>
	B	2,5	$3.053 \times 10^6$	78,4 <sup>x</sup>

*a = a, para  $P > 0,05$ , a ≠ c, para  $P \leq 0,05$ , b ≠ c, para  $P \leq 0,01$  (carneiro A, entre dias)*

*x = x, para  $P > 0,05$  (carneiro B, entre dias)*

A taxa de fertilidade das ovelhas CGB foi influenciada pelo carneiro dador de sémen (A: 83,3% vs. B: 95,3%) ( $\chi^2 = 7,4$ ;  $P \leq 0,01$ ). No carneiro A, a motilidade espermática no  $D_0$  mostrou-se inferior à dos  $D_{-2}$  ( $\chi^2 = 5,6$ ;  $P \leq 0,05$ ) e  $D_{-1}$  ( $\chi^2 = 6,6$ ;  $P \leq 0,01$ ). No carneiro B, as diferenças na motilidade espermática revelaram-se não significativas ( $P > 0,05$ ).

## 2.3. TAXA DE FERTILIDADE PÓS-INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Quarenta e um dias pós-IA, 89,9% (n = 71) das ovelhas CGB estavam gestantes. A dose de eCG administrada afetou a taxa de fertilidade (400 UI: 95,0% vs. 500 UI: 84,6%) ( $\chi^2 = 5,6$ ;  $P \leq 0,05$ ). O tempo de conservação do sémen refrigerado condicionou a taxa de fertilidade ( $D_{-3}$ : 85,7% vs.  $D_{-2}$ : 100% vs.  $D_{-1}$ : 100% vs.  $D_0$ : 72,2%) ( $\chi^2 = 57,4$ ;  $P \leq 0,001$ ). Depois de refrigerado, o poder fecundante do sémen recolhido no  $D_{-3}$  variou em função do carneiro dador (A: 77,8% vs. B: 91,7%) ( $\chi^2 = 8,4$ ;  $P \leq 0,01$ ). De igual modo, o poder fecundante do sémen recolhido no  $D_0$  foi condicionado pelo carneiro dador de sémen (A: 55,6% vs. B: 88,9%) ( $\chi^2 = 5,6$ ;  $P \leq 0,05$ ).

A IA foi maioritariamente cervical (98,7%). Das ovelhas inseminadas cervicalmente, 91,0% ficaram gestantes. Apenas uma ovelha foi inseminada intra-uterinamente. Esta ovelha não ficou gestante.

Das ovelhas inseminadas cervicalmente, 46,8% não apresentou refluxo cervical e 53,2% produziu refluxo cervical ligeiro (presença de sémen em Os externo) ( $\chi^2 = 0,7$ ;  $P > 0,05$ ). A taxa de fertilidade não foi afetada pela ocorrência de refluxo cervical ligeiro (Sem: 94,6% vs. Ligeiro: 87,8%) ( $\chi^2 = 3,2$ ;  $P > 0,05$ ).

### 3. DISCUSSÃO

#### 3.1. IDADE

A idade é um dos principais fatores que afeta a taxa de fertilidade pós-IA (Shackell *et al.*, 1990, Anel *et al.*, 2005, Esmailizadeh *et al.*, 2009, Forcada, 2010, Santolaria *et al.*, 2011, Palacín *et al.*, 2012, Venâncio, 2012, Valentim *et al.*, 2015, Conradi, 2018, Fornazari, 2018 e El Amiri e Rahim, 2024). A taxa de fertilidade tende a ser mais baixa nas fêmeas nulíparas e primíparas do que nas fêmeas múltíparas (Halbert *et al.*, 1990, Windsor, 1995, Palacín *et al.*, 2012 e El Amiri e Rahim, 2024), possivelmente porque sofrem frequentemente de carências nutricionais resultantes das suas necessidades de crescimento e de produção de leite (Anel *et al.*, 2005), menores níveis cervicais de E<sub>2</sub> (Kershaw *et al.*, 2005), de que resulta um menor relaxamento desta estrutura (El Amiri e Rahim, 2024) ou porque produzem menos secreções cervicais, o que compromete o transporte dos SPZ ao longo do canal cervical (Selaive-Villarroel e Kennedy, 1983a,b, Richardson *et al.*, 2011, Santolaria *et al.*, 2011, Palacín *et al.*, 2012 e El Amiri e Rahim, 2024). De acordo com El Amiri e Rahim (2024), o aumento da idade comporta a alteração das estruturas cervicais – pregas maiores e menos intrincadas.

Nas ovelhas múltíparas, a taxa de fertilidade tende a aumentar com a idade (Windsor, 1995, Santolaria *et al.*, 2011, Palacín *et al.*, 2012 e El Amiri e Rahim, 2024), até aos 5 (Anel *et al.*, 2006 e Palacín *et al.*, 2012), 6 (Shackell *et al.*, 1990, Naqvi *et al.*, 2002, Santolaria *et al.*, 2011 e El Amiri e Rahim, 2024) ou 7 anos de idade (Esmailizadeh *et al.*, 2009, Santolaria *et al.*, 2011, Fornazari, 2018 e Paula, 2021). Nas ovelhas mais velhas, a taxa de fertilidade tende a reduzir-se devido ao aumento do risco de ocorrência de problemas reprodutivos (García-Ispierto *et al.*, 2007 e El Amiri e Rahim, 2024), à diminuição da qualidade dos oócitos II libertados (Palacín *et al.*, 2012) ou à destruição do CL (García-Ispierto *et al.*, 2007 e El Amiri e Rahim, 2024). No presente trabalho, 20,3% (n = 16) das ovelhas tinham 1-2 anos, 24,1% (n = 19) tinham entre 3-6 anos e 55,7% (n = 44) tinham mais de 7 anos de idade. O facto da idade não ter condicionado a resposta reprodutiva pode estar associado ao elevado coeficiente de variação observado e ao reduzido número de ovelhas estudadas, particularmente das que tinham menos de 2 anos de idade. Resultados idênticos foram observados por Anderclei (2018), com ovelhas da raça CGB e Pera (2021), com ovelhas cruzadas de Awassi x Sarda.

#### 3.2. CONDIÇÃO CORPORAL

A resposta das ovelhas aos programas reprodutivos é condicionada pela alimentação e pela CC (Santolaria *et al.*, 2011, Garcia-Garcia, 2012, Mosaad e Derar, 2012, Habibizad *et al.*,

2015, *Banchero et al., 2021 e González-Maldonado et al., 2023*). A alimentação tem um impacto significativo sobre várias funções reprodutivas: produção de hormonas, foliculogénese, qualidade dos oócitos II, fecundação, desenvolvimento embrionário precoce e taxas de fertilidade (*Forcada et al., 1992, Santolaria et al., 2011, Garcia-Garcia, 2012, Mosaad e Derar, 2012, Habibizad et al., 2015, González-Maldonado et al., 2023 e Chaves et al., 2024*) e de prolificidade (*Martin et al., 2004, Mosaad e Derar, 2012 e Hernández-Marín et al., 2022*). A nutrição afeta a reprodução, fundamentalmente, através do balanço energético (*Boland et al., 2001, Scaramuzzi et al., 2006, Garcia-Garcia, 2012, Mosaad e Derar, 2012, Valentim et al., 2016 e González-Maldonado et al., 2023*). A CC é uma ferramenta de gestão que permite avaliar, de forma subjetiva, o estado nutricional dos animais (*Santolaria et al., 2011, Leão et al., 2016 e Cam et al., 2018*). Ela reflete a relação entre o estado nutricional e as taxas ovulatória (*González-Maldonado et al., 2023*), de fertilidade (*González-Maldonado et al., 2023 e Chaves et al., 2024*) e de prolificidade (*González-Maldonado et al., 2023*) e o bem-estar animal (*Cam et al., 2018*). Na época de cobrições, as ovelhas devem ter uma CC de 2,5-3,0 (*Hussein e Ababneh, 2008, Contreras-Solis et al., 2009, Mateus, 2014, Conradi, 2018*), 2,5-3,5 (*Valentim et al., 2016*), 2,5-4,0 (*Cam et al., 2018 e González-Maldonado et al., 2023*) ou 3,0 pontos (*Chaves et al., 2024*). No presente trabalho, a CC das ovelhas CGB não influenciou a função reprodutiva. De um modo geral, as ovelhas múltiparas estudadas apresentaram uma CC média (< 3,5 pontos) compatível com uma boa função reprodutiva. Por seu turno, as ovelhas nulíparas e as primíparas apresentaram uma CC média superior à das ovelhas múltiparas (> 3,9 pontos). *Fukui et al. (2010)* afirmam que as ovelhas nulíparas, com uma CC superior a 3,0 pontos, tendem a apresentar uma taxa de fertilidade superior à das demais ovelhas. Os resultados encontrados no presente trabalho não permitiram confirmar esta afirmação.

### 3.3. CARNEIROS

Os carneiros dadores de sémen influenciam fortemente a taxa de fertilidade pós-IA (*Anel et al., 2005 e Santolaria et al., 2011*). A diferença entre carneiros, relativamente ao seu poder fecundante, pode ter origem genética ou ambiental (*Salamon e Maxwell, 1995 e Santolaria et al., 2011*). De acordo com vários autores, esta diferença existe independentemente da qualidade do sémen (*Choudhry et al., 1995, Paulenz et al., 2002, Anel et al., 2005 e Santolaria et al., 2011*), que é afetada por fatores como a alimentação, o manejo e a frequência prévia de recolha de ejaculados (*Salamon e Maxwell, 1995 e Santolaria et al., 2011*). Todavia, os ejaculados a utilizar na IA devem ser de elevada qualidade (*El Amiri e Rahim, 2024*), ou seja, devem ter uma elevada concentração espermática, motilidade progressiva, viabilidade espermática e percentagem de

SPZ normais (Gibbons *et al.*, 2019, Mendoza *et al.*, 2021 e El Amiri e Rahim, 2024). Ainda assim, Anel *et al.* (2005), utilizando ejaculados pré-selecionados, encontraram diferenças entre carneiros quanto à taxa de fertilidade pós-IA cervical com sémen refrigerado. O mesmo aconteceu no presente trabalho, em que foram utilizados apenas ejaculados pré-selecionados com as seguintes características: volume  $\geq 1,5$  ml, concentração  $\geq 3,0 \times 10^9$  SPZ/ml e motilidade  $\geq 75,2\%$ . De acordo com David *et al.* (2008), a concentração e a motilidade espermática são as características seminais que mais condicionam a taxa de fertilidade. No presente trabalho, o carneiro A mostrou-se menos fértil do que carneiro B (A: 83,3% vs. B: 95,3%). A concentração espermática dos ejaculados foi sempre semelhante. Contudo, no Dia<sub>0</sub>, a motilidade espermática do carneiro A foi inferior à dos demais dias.

Saacke *et al.* (1994) e Santolaria *et al.* (2011) sugerem que existem dois tipos de fatores associados à qualidade do sémen que condicionam a taxa de fertilidade: compensáveis e não compensáveis. Os fatores compensáveis são sensíveis ao número de SPZ inseminados (Santolaria *et al.*, 2011), ou seja, o seu aumento tende a incrementar a taxa de fertilidade até ser atingido um determinado *plateau* (den Daas, 1992). Depois, ele deixa de ter qualquer efeito (Santolaria *et al.*, 2011). Os fatores não compensáveis incluem a falta de integridade da membrana plasmática (Mendoza *et al.*, 2021), os defeitos na condensação da cromatina (Santolaria *et al.*, 2011), os danos no ADN (Santolaria *et al.*, 2011 e Mendoza *et al.*, 2021) e a percentagem de SPZ não capacitados (Mendoza *et al.*, 2021). As características seminais associadas aos fatores não compensáveis não foram avaliadas no presente trabalho. Mais, é possível que as diferenças de fertilidade observadas entre carneiros dadores de sémen tenham resultado do manuseamento, do processamento e do armazenamento do sémen diluído. Nestas etapas, o sémen é sujeito a vários fatores de *stress* que podem influenciar a sua qualidade – flutuações da temperatura, agitação mecânica e exposição às ROS (Allai *et al.*, 2016, Zamiri, 2020, Abdillah *et al.*, 2021 e El Almiri e Rahim, 2024 e Sevilla *et al.*, 2025). No presente trabalho, a avaliação da qualidade do sémen diluído, refrigerado e armazenado não foi feita. Assim, sendo, desconhecem-se os fatores responsáveis pelas diferenças de fertilidade observadas pós-IA com sémen refrigerado dos dois carneiros dadores.

#### 3.4. ESTADO FISIOLÓGICO INICIAL

A resposta das ovelhas aos tratamentos hormonais é condicionada pelo seu estado fisiológico (cíclicas ou em anestro) inicial, ou seja, anterior à aplicação dos pré-tratamentos (Kukovics *et al.*, 2011, Santolaria *et al.*, 2011, Ashour *et al.*, 2018 e Larsen, 2024). Na estação reprodutiva, a sensibilidade do hipotálamo à retroação negativa exercida pelo E<sub>2</sub> é reduzida

(Waqas e Tibary, 2025). Pelo contrário, na estação de anestro, existem dois mecanismos que inibem a secreção de GnRH: elevada sensibilidade à retroação negativa exercida pelo E<sub>2</sub> e geração de um sinal melatoninérgico desencadeado pelo fotoperíodo de “dias longos” (E<sub>2</sub>-independente) (Waqas e Tibary, 2025). Neste sentido, a resposta aos tratamentos hormonais de controlo reprodutivo é superior na estação reprodutiva (Windsor, 1995 e Santolaria *et al.*, 2011). De acordo com os níveis plasmáticos de P<sub>4</sub>, as ovelhas CGB estudadas estavam todas cíclicas nos 10 dias pré-aplicação dos tratamentos hormonais. Valores semelhantes foram obtidos num outro estudo realizado igualmente com ovelhas CGB (Paula, 2023). Na mesma altura do ano, Dendena (2016) e Silva (2025) registaram percentagens de ovelhas CGB cíclicas inferiores, respetivamente, de 74,6% e 87,8%. Estas diferenças refletem possivelmente variações anuais nas condições ambientais (Anel *et al.*, 2005), que condicionam as condições climáticas, o desenvolvimento das pastagens naturais e, conseqüentemente, o estado de saúde e os gastos energéticos em termorregulação (Salama *et al.*, 2014, Palacios e Abecia, 2015, Abecia *et al.*, 2016 e Silva *et al.*, 2016). No presente trabalho, o facto das ovelhas estudadas estarem cíclicas terá contribuído para a obtenção da elevada taxa de fertilidade observada (89,9%).

### 3.5. DOSE DE eCG

Nos tratamentos com progesterona/progestagénios, a dose de eCG condiciona a taxa de fertilidade (Bosco *et al.*, 2002, Ali, 2007, Berean *et al.*, 2021, Payan *et al.*, 2022 e Walker *et al.*, 2025). A ação desta hormona depende, entre outros fatores, do momento do ano e da dose administrada (Abecia *et al.*, 2011, Moakhar *et al.*, 2012, Dias *et al.*, 2020 e Rosham *et al.*, 2023). Na estação reprodutiva, a eCG deve ser administrada em doses mais baixas do que na estação de anestro (Abecia *et al.*, 2011 e Moakhar *et al.*, 2012). Vários autores propõem a administração de doses de 250-400 UI (Abdulkareem, 2002, Abecia *et al.*, 2011, Gibbons e Cueto, 2012 e Moakhar *et al.*, 2012). Outros autores afirmam que a administração de 500 UI produz boas taxas reprodutivas (Koyuncu e Alticekic, 2010, Bacha *et al.*, 2014, Mateus, 2014, Fornazari, 2018, Pera, 2021, Mateus *et al.*, 2022, Larsen, 2024 e Silva, 2025). De acordo com os resultados anteriormente apresentados, as ovelhas CGB estudadas estavam todas cíclicas. A redução da dose de eCG administrada, de 500 para 400 UI, traduziu-se numa melhoria da taxa de fertilidade (500 UI: 84,6% vs. 400 UI: 95,0%). Este efeito pode ter resultado da antecipação dos eventos ováricos (Botha *et al.*, 1975, Barrett *et al.*, 2004, Moakhar *et al.*, 2012, Hameed *et al.*, 2021 e Akbulut e Kutlu, 2024), promovida por mais e maiores folículos dominantes (Bartlewski *et al.*, 1998, 1999a,b, Moakhar *et al.*, 2012 e Akbulut e Kutlu, 2024). Do ponto de vista dos criadores, a redução da dose de eCG a administrar permite reduzir os custos associados aos tratamentos de

sincronização deaios. Novos trabalhos deverão ser feitos no futuro, de modo a identificar-se a dose mínima de eCG capaz de induzir boas taxas de fertilidade nas ovelhas CGB.

### 3.6. TEMPO DE PRESERVAÇÃO DO SÉMEN DILUIDO

O sémen refrigerado de carneiro deve ser preservado a 15° ou a 4-5°C (Cseh *et al.*, 2012, Faigl *et al.*, 2012, Gibbons *et al.*, 2019 e Bustani e Baiee, 2021), dependendo do tempo previsto de preservação (Cseh *et al.*, 2012, Faigl *et al.*, 2012, Gibbons *et al.*, 2019, Bustani e Baiee, 2021 e El Almiri e Rahim, 2024). O sémen refrigerado a 15°C deve ser utilizado, preferencialmente, no prazo máximo de 8-12 horas (Faigl *et al.*, 2012, Gibbons *et al.*, 2019 e El Almiri e Rahim, 2024), podendo chegar às 48 horas pós-recolha (Mata-Compuzano *et al.*, 2017 e Gibbons *et al.*, 2019). Por seu turno, o sémen refrigerado a 4-5°C pode ser inseminado em 24-48 (Bülbül *et al.*, 2024 e El Almiri e Rahim, 2024) ou até 72 horas pós-recolha (O'Hara *et al.*, 2010, Wusiman *et al.*, 2012, Bustani e Baiee, 2021 e Saha *et al.*, 2022). No presente trabalho, os ejaculados recolhidos nos D<sub>-3</sub>, D<sub>-2</sub> e D<sub>-1</sub> foram preservados a 5°C. O ejaculado recolhido no D<sub>0</sub> ( $\pm$  5 horas antes da IA) foi preservado a 15°C. Desta forma procurou-se que os SPZ apresentassem o melhor poder fecundante possível.

Quarenta e um dias pós-IA, a taxa de fertilidade variou em função do tempo de preservação (D<sub>-3</sub>: 85,7% vs. D<sub>-2</sub>: 100% vs. D<sub>-1</sub>: 100% vs. D<sub>0</sub>: 72,2%). Contudo, tal como já foi anteriormente referido, a taxa de fertilidade foi influenciada pelos carneiros dadores de sémen. Este efeito evidenciou-se nos casos das IA realizadas com ejaculados recolhidos no D<sub>-3</sub> (A: 77,8% vs. B: 91,7%) e particularmente no D<sub>0</sub> (A: 55,6% vs. B: 88,9%). A diminuição da taxa de fertilidade observada pós-IA com sémen preservado durante 3 dias era expectável, porque se sabe que a taxa de fertilidade tende a baixar durante o processo de refrigeração (O'Hara *et al.*, 2010, Santolaria *et al.*, 2011, Zamiri, 2020, Bustani e Baiee, 2021 e El Almiri e Rahim, 2024) e do tempo de preservação (10-35%/dia) (Cseh *et al.*, 2012, Faigl *et al.*, 2012 e Rajabi-Toustani *et al.*, 2021). Ainda assim, no presente trabalho, a IA cervical com sémen preservado a 5°C durante 3 dias promoveu uma boa taxa de fertilidade (85,7%). Também O'Hara *et al.* (2010) e Bustani e Baiee (2021) referem que o sémen preservado a 5°C durante 3 dias mantém uma motilidade e uma viabilidade espermática aceitáveis. No presente trabalho, a taxa de fertilidade registada pós-IA com sémen recolhido no D<sub>0</sub> mostrou-se relativamente baixa. É possível que ao 4º dia de recolha de ejaculados, o sémen dos carneiros dadores, particularmente o do carneiro A, contivesse uma maior percentagem de SPZ mais sensíveis ao *stress* causado pelo processo de refrigeração – redistribuição dos constituintes das membranas espermáticas, peroxidação dos lípidos, produção de ROS e perturbação da respiração celular, com a conseqüente redução da motilidade

(Santolaria *et al.*, 2011, Rizkallah *et al.*, 2022 e El Almiri e Rahim, 2024) e da viabilidade espermática (Alvarez *et al.*, 2019, El Almiri e Rahim, 2024 e Hameed *et al.*, 2024). Efetivamente, a motilidade dos SPZ produzidos pelo carneiro A no D<sub>0</sub> mostrou-se inferior à dos SPZ produzidos nos D<sub>-2</sub> e D<sub>-1</sub> e idêntica à dos SPZ produzidos no D<sub>-3</sub>.

### 3.7. LOCAL DE DEPOSIÇÃO DA DOSE SEMINAL

O cérvix é a porta de entrada dos SPZ no útero (Santolaria *et al.*, 2011, Alvarez *et al.*, 2019, Macías *et al.*, 2020 e Schimpf *et al.*, 2022). As suas características físicas – tecidos cartilágneo, fibromuscular e mucosa (Abril-Parreño e Fair, 2025), não dilatável durante o cio (Abbasabadi *et al.*, 2019), comprido (Abbasabadi *et al.*, 2019, Abril-Parreño *et al.*, 2021a e Schimpf *et al.*, 2022), estreito (Schimpf *et al.*, 2022), com anéis em forma de funil (Macías *et al.*, 2020, Abril-Parreño *et al.*, 2021a e Schimpf *et al.*, 2022), não concêntricos (Santolaria *et al.*, 2011, Macías *et al.*, 2020, Abril-Parreño *et al.*, 2021a e Abril-Parreño e Fair, 2025) e com aberturas maioritariamente inferiores a 3 milímetros (Santolaria *et al.*, 2011), e secreção de muco (Abril-Parreño *et al.*, 2021a, Schimpf *et al.*, 2022, El Amiri e Rahim, 2024 e Abril-Parreño e Fair, 2025) – influenciam a capacidade dos SPZ ultrapassarem esta estrutura (Schimpf *et al.*, 2022, El Amiri e Rahim, 2024 e Abril-Parreño e Fair, 2025). Na IA cervical, a anatomia do cérvix determina o local de deposição do sémen e condiciona a taxa de fertilidade (Santolaria *et al.*, 2011, Abril-Parreño *et al.*, 2021b, El Amiri e Rahim, 2024, Abril-Parreño e Fair, 2025 e Myers e Kasimanickam, 2025). Quanto mais profundamente a dose seminal for colocada, maior será a taxa de fertilidade (Kershaw *et al.*, 2005, Kaabi *et al.*, 2006, Candappa e Bartlewski, 2011, Santolaria *et al.*, 2011, Dendena, 2016 e Macías *et al.*, 2020). Contudo, a passagem do pistolete pelo canal cervical não deve ser forçada (Steyn, 2003, Aisen, 2004b, Ferra e Sereno, 2006, Santolaria *et al.*, 2011, Faigl *et al.*, 2012, Valentim *et al.*, 2016, Dendena, 2017, Conradi, 2018, Fornazari, 2018, Pera, 2021 e Myers e Kasimanickam, 2025), de modo a evitar-se inflamar ou ferir a mucosa do canal cervical (Conradi, 2018, Fornazari, 2018, Pera, 2021 e Silva, 2025). No presente trabalho, a dose seminal foi depositada depois de se ultrapassar a 1ª ou 2ª prega do canal cervical de praticamente todas as ovelhas (98,7%). Em apenas uma ovelha foi possível depositar a dose seminal diretamente no corpo do útero.

### 3.8. REFLUXO CERVICAL

O refluxo cervical de sémen pode influenciar a taxa de fertilidade (Candappa e Bartlewski, 2011, Faigl e Morrell, 2011, Dendena, 2017, Conradi, 2018 e Fornazari, 2018). Este deve ser evitado (Cseh *et al.*, 2012, Faigl *et al.*, 2012, Dendena, 2017 e Myers e Kasimanickam, 2025),

particularmente quando é abundante (Dendena, 2017 e Fornazari, 2018). O refluxo cervical pode ocorrer devido à relação entre volume interno do canal cervical (0,1-0,2 ml):volume da dose seminal (0,25-0,5 ml) (Gordon, 1997, Anel *et al.*, 2006, Santolaria *et al.*, 2011, Cseh *et al.*, 2012, Dendena, 2016 e Fornazari, 2018) ou à ação do inseminador (Shackell *et al.*, 1990, Gordon, 1997, Donovan *et al.*, 2004, Anel *et al.*, 2005, Palacín *et al.*, 2012, Dendena, 2017, Pera, 2021 e Silva, 2025). No presente trabalho, o refluxo cervical foi sempre ligeiro e não afetou a taxa de fertilidade. O mesmo foi observado por Conradi (2018) e Paula (2023), em estudos realizados com ovelhas CGB e por Fornazari (2018) e Pera (2021), em estudos envolvendo ovelhas cruzadas de Awassi x Sarda. No presente trabalho, as inseminações foram realizadas por um inseminador experiente e com boa formação técnica.

#### 4. CONCLUSÕES

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

- Nem a idade, nem a CC condicionaram o estado fisiológico inicial e a taxa de fertilidade pós-IA.
- Nos primeiros dez dias do mês de abril (pré-tratamentos), todas as ovelhas estavam cíclicas.
- Os carneiros dadores de sémen influenciaram a taxa de fertilidade (A: 83,3% vs. B: 95,3%).
- A dose de eCG afetou a taxa de fertilidade (400 UI: 95,0% vs. 500 UI: 84,6%).
- O tempo de preservação do sémen influenciou a taxa de fertilidade (D<sub>3</sub>: 85,7% vs. D<sub>2</sub>: 100% vs. D<sub>1</sub>: 100% vs. D<sub>0</sub>: 72,2%).
- O refluxo cervical observado ou não existiu ou foi ligeiro (Sem: 46,8% vs. Ligeiro: 53,2%).
- O refluxo cervical ligeiro não condicionou a taxa de fertilidade (Sem: 94,6% vs. Ligeiro: 87,8%).

### III – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadjieva, D., Yotov, S., Mladenova, V., Lauberte, L., Kalvanov, I., Krasilnikova, J., Telesheva, G. e Kistanova, E., 2020. Positive effect of natural antioxidant oregonin from *Alnus incan* bark on ram semen quality stored at 5°C for 48h. *Research in Veterinary Science*, **131**, 153-158.
- Abbasabadi, B.M., Kochakzadeh, H. e Aski, A.K., 2019. Evaluating gross anatomy of cervix in Zel sheep. *Anatomical Sciences Journal*, **16** (1), 39-44.
- Abdillah, L., Bintara, S., Maharani, D. e Budisatria, I.G.S., 2021. The quality of chilled fat tail sheep ram's semen with antioxidant addition, vitamin C and vitamin E in citrate egg yolk extender. In: 7<sup>th</sup> International Seminar on Tropical Animal Production, Jakarta, Indonésia, 650-654.
- Abdulkareem, T.A., 2002. Reproductive performance of Awassi ewe lambs following treatment with equine chorionic gonadotropin. *The Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, **33** (2), 263-266.
- Abecia, A. e Forcada F., 2010. Manejo reproductivo en ganado ovino, Editora Servet, Saragoça, Espanha, 195 p.
- Abecia, J.A., Arrébola, F., Macías, A., Laviña, A., González-Casquet, O., Benítez, F. e Palacios, C., 2016. Temperature and rainfall are related to fertility rate after spring artificial insemination in small ruminants. *International Journal of Biometeorology*, **60**, 1603-1609.
- Abecia, J.A., Forcada, F. e González-Bulnes, A., 2011. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **27** (1), 67-79.
- Abecia, J.A., Forcada, F. e González-Bulnes, A., 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, **130**, 173-179.
- Abecia, J.A., Máñez, J., Macias, A., Laviña, A. e Palacios, C., 2017. Climate zone influences the effect of temperature on the day of artificial insemination on fertility in two Iberian sheep breeds. *Journal of Animal Behavior Biometeorology*, **5**, 124-131.
- Abril-Parreño, L. e Fair, S., 2025. Cervical artificial insemination with frozen-thawed semen in sheep: the secret is in the cervix of Norwegian ewe breeds. *Biology of Reproduction*, ioaf084, 1-10.
- Abril-Parreño, L., Krogenæs, A.K., Byrne, C.J., Donovan, A., Stuen, S., Caldas, E., Diskin, M., Druart, X. e Fair, S., 2021a. Ewe breed differences in cervical anatomy and cervicovaginal mucus properties: An international study. *Theriogenology*, **160**, 18-25.

- Abril-Parreño, L., Meade, K.G., Krogenæs, A.K., Druart, X., Fair, S. e Cormican, P., 2021b. Conserved and breed-specific differences in the cervical transcriptome of sheep with divergent fertility at the follicular phase of a natural oestrus cycle. *BMC Genomics*, **22**, 752.
- Afonso, F.M.T., 2015. Antecipação da estação reprodutiva em ovelhas da raça Churra Galega Bragança. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 44 p. (*Tese de Mestrado*)
- Aisen, E.G., 2004a. Procesamiento y conservación del material seminal. *In: Reproducción ovina y caprina*. E.G. Aisen (Editor), Cap. 6, Intermédica Editora, São Paulo, Brasil, 216 p.
- Aisen, E.G., 2004b. Inseminación artificial de ovejas y cabras. *In: Reproducción ovina y caprina*. E.G. Aisen (Editor), Cap. 8, Intermédica Editora, São Paulo, Brasil, 216 p.
- Akal, E., Koçyiğit, A. e Selçuk, M., 2014. Role of low density lipoproteins in semen preservation. *Kocatepe Veteriner Journal*, **7** (1), 69-74.
- Akbulut, N.K. e Kutlu, M., 2023. The effects of different doses of eCG injection on reproductive parameters in nulliparous Merino ewes during the non-breeding season. *Livestock Studies*, **64** (2), 51-55.
- Aköz, M., Bülbül, B., Ataman, M. e Dere, S., 2006. Induction multiple births in Akkaraman cross-bred sheep synchronized with short duration and different doses of progesterone treatment combined with PMSG outside the breeding season. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, **50** (1), 97-100.
- Alcay, S., Berk Toker, M., Gokce, E., Ustuner, B., Tekin Onder, N., Sagirkaya, H., Nur, Z. e Kemal Soylu, M., 2015. Successful ram semen cryopreservation with lyophilized egg yolk-based extender. *Cryobiology*, **71** (2), 329-333.
- Al-hamedawi TM, Khammas DJ, Al-ubaidi AS (2003) Effect of estrus
- Al-Hamedawi, T.M., Khammas, D.J. e Al-Ubaidi, A.S., 2003. Effect of estrus synchronization on vaginal flora and subsequeute fertility in ewes. *Iraqi Journal of Veterinary Science*, **16**, 73-79.
- Al-Hamedawi, T.M., Mohammed, A.H., Al-Yasiri, E.A. e Athab, M.L., 2020. Comparative study between melatonin hormone and vaginal sponges plus eCG on effect of fertility in lactating Iraqi Nuaimy ewes. *Plant Archives*, **20** (2), 5640-5642.

- Alhimaidi, A.R., Ammari, A.A., Alghadi, M.Q., Amran, R.A. e Rady, A.M., 2023. Comparison between the CIDR or sponge with hormone injection to induce estrus synchronization for twinning and sex preselection in Naimi sheep. *Open Chemistry*, **21**, 20220296.
- Ali, A., 2007. Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. *Small Ruminant Research*, **72**, 33-37.
- Allai, L., Druart, X., Ozturk, M., BenMoula, A., Nasser, B. e El Amiri, B., 2016. Protective effects of *Opuntia ficus-Indica* extract on ram sperm quality, lipid peroxidation and DNA fragmentation during liquid storage. *Animal Reproduction Science*, **175**, 1-9.
- Allam, A.M., El-Zarkouny, S.Z., Elshahawy, I., Nagadi, S.A. e Kesler, D.J., 2016. Effects of post-mating treatments with gonadotropin-releasing hormone and equine chorionic gonadotropin on reproductive efficiency of Harri ewes in tropical regions. *Small Ruminant Research*, **132**, 55-59.
- Almadaly, E.A., Sahwan, F., El Domany, W.B., Fawzy, A.M., Shukry, M. e Farrag, F., 2023. Comparison of estrus response and subsequent fertility following estrus synchronization with six protocols in Ossimi ewes during the early summer season. *Veterinaria México OA*, **10**.
- Al-Rawi, M.A.O. e Hussain, S.O., 2024. Impacto f CIDR-PMSG and MAP sponges-PMSG treatment of reproductive performance of ewes with assessment of progesterone concentration during treatment and pregnancy. *O&G Forum*, **34-3s**, 1220-1240.
- Altınçekiç, S.Ö. e Koyuncu, M., 2019. The effects of short-mid-long term intravaginal sponge application on reproductive performance of karacabey Merino ewes in the anestrous season. *Indian Animal Research*, **1**, 33-36.
- Altınçekiç, S.O., Cilo, D.B., Duru, S., Koyuncu, M., 2021. Investigation of the effect of intravaginal device-type and treatment-duration on vaginal features in ewes and determination of antibiotic susceptibility. *Indian Journal of Animal Research*, **55** (8), 924-929.
- Alvarez, M., Anel-Lopez, L., Boixo, J.C., Chamorro, C., Neila-Montero, M., Montes-Garrido, R., de Paz, P. e Anel, L., 2019. Current challenges in sheep artificial insemination: A particular insight. *Reproduction in Domestic Animals*, **54** (Suppl. 4), 32-40.
- Amini, S., Masoumi, R., Rostami, B., Shahir, M.H., Taghilou, P. e Arslan H.O., 2019. Effects of supplementation of Tris-egg yolk extender with royal jelly on chilled and frozen-thawed ram semen characteristics. *Cryobiology*, **88**, 75-80.

- Anel, L., Alvarez, M., Martinez-Pastor, F., Garcia-Macias, V., Anel, E. e de Paz, P., 2006. Improvement strategies in ovine artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals*, **41** (Supl. 2), 30-42.
- Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J.C., de la Fuente, L.F. e de Paz, P., 2005. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in Churra ewes: A field assay. *Theriogenology*, **63**, 1235-1247.
- Ashour, G., El-Bassiony, M.F., Dessouki, Sh.M. e El-Wakeel, M.A., 2018. Application of different hormonal protocols for improving reproductive performance of Barki ewes. *World's Veterinary Journal*, **8** (3), 55-64.
- Atigui, M. e Chniter, M., 2022. Ovine artificial insemination in the Maghreb region: Present status and future prospects. *In: Sheep farming – Herds husbandry, management system, reproduction and improvement of animal health*, M. Gonzalez-Ronquillo e C. Palacios-Riocerezo (Editores), IntechOpen, 178 p.
- Azevedo, J.M., Valentim, R.C. e Correia, T.M., 2006. Controlo hormonal da actividade ovárica em ovinos. *Albétar Portuguesa*, **2** (6), 4-8.
- Bacha, S., Khiati, B., Hammoudi, S.M., Kaidi, R. e Ahmed, M., 2014. The effect of dose of Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) on reproductive performance of Algerian Rembi ewes during seasonal anoestrus. *Veterinary Science & Technology*, **5** (4), 1000190.
- Baldassare, H. e Karatzas, C.N., 2004. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Animal Reproduction Science*, **82-83**, 255-266.
- Banchero, G.E., Stefanova, K., Lindsay, D.R., Quintans, G., Baldi, F., Milton, J.T.B. e Martin, G.B., 2021. Ovulation and ovulation rate in ewes under grazing conditions: factors affecting the response to short-term supplementation. *Animal*, **15** (2), 100100.
- Bancheva, Ts., Stoycheva, S., Dimitrova, Ts. E Markov, N., 2021. Natural and artificial insemination in sheep - A review. *Scientific Papers. Series D. Animal Science*, **LXIV** (1), 9 p.
- Banday, M.N., Lone, F.A., Rasool, F., Rashid, M. e Shikari, A., 2017. Use of antioxidants reduce lipid peroxidation and improve quality of crossbred ram sperm during its cryopreservation. *Cryobiology*, **74**, 25-30.
- Baril, G., Chemineau, P., Cognié, Y., Guérin, Y., Leboeuf, B., Orgeur, P. e Vallet, J.-C., 1993. Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. Étude FAO Production et Sante Animales, Roma, Itália, 231 p.

- Barrett, D.M.W., Bartlewski, P.M., Symington, A. e Rawlings, N.C., 2004. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU eCG following a 12-day treatment with progestagen-releasing intravaginal sponges in the breeding and non-breeding season in ewes. *Theriogenology*, **61**, 311-327.
- Bartlewski, P.M., Alexander, B.D. e King, W.A., 2008. Ovarian and endocrine determinants of superovulatory responses in anestrous ewes. *Small Ruminant Research*, **75**, 210-216.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P. e Rawlings, N.C., 1999b. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology*, **52**, 115-130.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Cook, S.J. e Rawlings N.C., 1998. Ovarian follicular dynamics during anoestrous in ewes. *Journal of Reproduction & Fertility*, **113**, 275-285.
- Bartlewski, P.M., Beard, A.P., Cook, S.J., Chandolia, R.K., Honaramooz, A. e Rawlings, N.C., 1999a. Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *Journal of Reproduction & Fertility*, **115**, 111-124.
- Bartlewski, P.M., Sohal, J., Paravinja, V., Baby, T., Oliveira, M.E.F., Murawski, M. e Keisler, D.H., 2017. Is progesterone the key regulatory factor behind ovulation rate in sheep? *Domestic Animal Endocrinology*, **58**, 30-38.
- Bashawat, M., Hensel, B., Müller, K. e Schulze, M., 2021. Cooled storage of semen from livestock animals (Part II): Camelids, goats, and sheep. *Animal Reproduction Science*, **234**, 106855.
- Berean, D., Ergene, O., Blaga-Petrean, A., Bogdan, I., Ciupe, S., Cenariu, M., Pall, E. e Bogdan, L.M., 2021. Comparative data about estrus induction and pregnancy rate on Lacaune ewes in non-breeding season after melatonin implants and intravaginal progestagen. *Indian Journal of Animal Research*, **55** (5), 517-521.
- Bergeron, A. e Manjunath, P., 2006. New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. *Molecular Reproduction and Development*, **73** (10), 1338-1344.
- Bergeron, A., Brindle, Y., Blondin, P. e Manjunath, P., 2007. Milk caseins decrease the binding of the major bovine seminal plasma proteins to sperm and prevent lipid loss from the sperm membrane during sperm storage. *Biology of Reproduction*, **77**, 120-126.
- Biehl, M.V., de Ferraz Junior, M.V.C., Barroso, J.P.R., Susin, I., Ferreira, E.M., Polizel, D.M. e Pires, A.V., 2019. The reused progesterone device has the same effect on short or long estrus synchronization protocols in tropical sheep. *Tropical Animal Health Production*, **51**, 1545-1549.

- Boland, M.P., Crosby, T.F. e Gordon, I., 1981. Effect of mating management and PMSG dose on lambing outcome in ewes bred in late anestrus. *Journal of Agriculture Science*, **97** (2), 445-447.
- Boland, M.P., Lonergan, P. e O'Callaghan, D., 2001. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology*, **55** (6), 1323-1340.
- Boscos, C.M., Samartzi, F.C., Dellis, S., Rogge, A., Stefanakis, A. e Krambovitis, E., 2002. Use of progestogen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology*, **58**, 1261-1272.
- Botha, H.K., Niekerk, C.H. e Pagel, R.F.E., 1975. Influence of synchronization of the oestrous period PMSG administration and flushing on oestrus and conception of South African Mutton Merinos. *Journal of Animal Science*, **5**, 231-233.
- Bradford, G.E., Quirke, J.F. e Hart, R., 1971. Natural and induced ovulation rate of Finnish Landrace and other breeds of sheep. *Animal Production*, **13**, 627-635.
- Bragança, J.F.M., Maciel, J.M., Girardini, L.K., Machado, S.A., Rocha, J.F.X. da, Tonin, A.A. e Rocha, R.X. da, 2003. Influence of a device intravaginal to synchronization/induction of estrus and its reuse in sheep vaginal flora. *Comparative Clinical Pathology*, **26** (6), 1369-1373.
- Brito, M.F., Neves, B.P., Andrade, G. de O., Gouvêa, R.R., Almeida, J., Morais, C.L., Filho, O.A.M., Araújo, M.S.S., Melo, M.I.V. de e Henry, M., 2018. Low density lipoproteins at 2% concentration can replace whole egg yolk in TES-Tris-milk extender for freezing buffalo sperm cells. *Acta Scientiae Veterinariae*, **46** (1), 6.
- Broom, D.M. e Fraser, A.F., 2007. Domestic animal behavior and welfare. 4ª Edição, Cabi, Wallingford, RU, 540 p.
- Broom, D.M. e Fraser, A.F., 2015. Domestic animal behavior and welfare. 5ª Edição, Cabi, Wallingford, RU, 462 p.
- Broom, D.M., 2022. Broom and Fraser's domestic animal behaviour and welfare. 6ª Edição, Cabi, Wallingford, RU, 545 p.
- Bukar, M.M., Yusoff, R., Haron, A.W., Dhaliwal, G.K., Khan, M.A.G e Omar, M.A., 2012. Estrus response and follicular development in Boer does synchronized with flugestone acetate and PGF<sub>2α</sub> or their combination with eCG or FSH. *Tropical Animal Health Production*, **44**, 1505-1511.

- Bülbül, B., Dayanıklı, C., Şengül, E., Turan, A., Aksoy, M. e Nur, Z., 2024. Failure of isoxsuprine HCl to increase sheep fertility after cervical versus laparoscopic AI using chilled semen at different durations. *Animal Science Journal*, **95** (1), e13973.
- Bustani, G.S. e Baiee, F.H., 2021. Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders. *Veterinary World*, **14** (5), 1220-1233.
- Cam, M.A., Garipoglu, A.V. e Kirikci, K., 2018. Body condition status at mating affects gestation length, offspring yield and return rate in ewes. *Archives Animal Breeding*, **61**, 221-228.
- Câmara, D.R., Mello-Pinto, M.M.C., Pinto, L.C., Brasil, O.O., Nunes, J.F. e Guerra M.M.P., 2011. Effects of reduced glutathione and catalase on the kinematics and membrane functionality of sperm during liquid storage of ram semen. *Small Ruminant Research*, **100**, 44-49.
- Candappa, I.B.R. e Bartlewski, P.M., 2011. A review of advances in artificial insemination (AI) and embryo transfer (ET) in sheep, with the special reference to hormonal induction of cervical dilation and its implications for controlled animal reproduction and surgical techniques. *The Open Reproductive Science Journal*, **3**, 162-175.
- Caraty, A. e Skinner, D.C., 1999. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory Gonadotropin-Releasing Hormone surge in the ewe. *Endocrinology*, **140**, 165-170.
- Chaves, A.S., Silva, F., Valentim, R. e Quintas, H., 2024. Body condition in small ruminants - effects of nutrition on the hypothalamus-pituitary-gonadal axis and ovarian activity that controls reproduction. *Physiologia*, **4**, 213-225.
- Chemineau, P., Malpoux, B., Pelletier, J., Lebouf, B., Delgadillo, J.A., Deletang, F., Pobel, T. e Brice, G., 1996. Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins. *INRA Producción Animales*, **9** (1), 45-60.
- Cizmeci, S.U., Kivrak, M.B., Takci, A., Dinc, D.A. e Coskun, B., 2022. Evaluation of hormonal protocols for induction of synchronized estrus on reproductive indices in Kangal-Akkaraman ewes during the outbreeding season. *Small Ruminant Research*, **216**, 106787.
- Conradi, A., 2018. Sincronização da actividade ovárica e inseminação artificial em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Efeitos da administração de melatonina exógena, de um tratamento progestagénico curto + eCG, de dois diluidores seminais e de duas técnicas de preservação do sémen. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 78 p. (*Tese de Mestrado*)

- Contreras-Solis, I., Vasquez, B., Diaz, T., Letelier, C., Lopez-Sebastian, A. e Gonzalez-Bulnes, A., 2009. Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and "male effect". *Theriogenology*, **71** (6), 1018-1025.
- Côrtes, L.R., Souza-Fabjan J.M.G., Dias, D.S., Martins, B.B., Maia, A.L.R.S., Veiga, M.O., Arashiro, E.K.N., Brandão, F.Z., Oliveira, M.E.F., Bartlewski, P.M. e Fonseca, J.F., 2021. Administration of a single dose of 300 IU of human chorionic gonadotropin seven days after the onset of estrus improves pregnancy rate in dairy goats by an unknown mechanism. *Domestic Animal Endocrinology*, **74**, 106579.
- Cox, J.F., Allende, R., Lara, E., Leiva, A., Díaz, T., Dorado, J. e Saravia, F., 2012. Follicular dynamics, interval to ovulation and fertility after AI in short-term progesterone and PGF<sub>2α</sub> oestrous synchronization protocol in sheep. *Reproduction in Domestic Animals*, **47**, 946-951.
- Cseh, S., Faigl, V. e Amiridis, G.S., 2012. Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. *Animal Reproduction Science*, **130**, 187-192.
- Cueto, M.I., Bruno-Galarraga, M.M.; Fernandez, J., Fierro, S. e Gibbons, A.E., 2020. Addition of eCG to a 14 d prostaglandin treatment regimen in sheep FTAI programs. *Animal Reproduction Science*, **221**, 106597.
- Daham, A., Jaber, A. e Al-Saaidi, J., 2023. Age as determinant of the effectiveness of intravaginal sponges impregnated with progestin and equine Chorionic Gonadotropin for multiple births induction of Awassi ewes. *Veterinary Medicine International*, **2023**, 9800053, 5 p.
- Darin-Bennett, A. e White, I.G., 1977. Influence of the cholesterol content of mammalian spermatozoa on susceptibility to cold-shock. *Cryobiology*, **14**, 466-470.
- David, I., Kohnke, P., Lagriffoul, G., Praud, O., Plouarboué, F., Degond, P. e Druart, X., 2015. Mass sperm motility is associated with fertility in sheep. *Animal Reproduction Science*, **161**, 75-81.
- David, I., Robert-Granie, C., Manfredi, E., Lagriffoul, G. e Bodin, L., 2008. Environmental and genetic variation factors of artificial insemination success in French dairy sheep. *Animal*, **2** (7), 979-986.
- De Rensis, F., Saleri, R., Tummaruk, P., Techakumphu, M. e Kirkwood, R., 2011. Prostaglandin F<sub>2α</sub> and control of reproduction in female swine: A review. *Theriogenology*, **77**, 1-11.
- Deac, A.M., Pop, D., Aipătioaie, M.G., Muscă, A.S., Mesesan, Ş.D., Miclea, I., Ladoşi, I. e Zăhan, M., 2024. Estrus synchronization protocols for fixed-time artificial insemination (FTAI) during non-breeding season in ewes. *Journal of Central European Agriculture*, **25** (1), 13-21.

- den Daas, N., 1992. Laboratory assessment of semen characteristics. *Animal Reproduction Science*, **28** (1-4), 87-94.
- Dendena, M.W., 2017. Controlo da actividade reprodutiva e inseminação artificial em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 52 p. (*Tese de Mestrado*)
- Dias, J.H., Miranda, V.O., Oliveira, F.C., Junior, S.V., Haas, C.S., Costa, V.G., Lucia Jr., T., Vieira, A.D., Corcini, C.D. e Gasperin, B.G., 2020. Treatment with eCG and hCG to induce onset of estrous cycles in ewes during the non-breeding season: effects on follicular development and fertility. *Animal Reproduction Science*, **212**, 106232.
- Dias, L.M.K., Barros, M.B.P. de, Viau, P., Sales, J.N.S., Valentim, R., Santos, F.F. dos, Cunha Jr., M.C. da, Marino, C.T. e Oliveira, C.A. de, 2015. Effect of a new device for sustained progesterone release on the progesterone concentration, ovarian follicular diameter, time of ovulation and pregnancy rate of ewes. *Animal Reproduction Science*, **155**, 56-63.
- Donovan, A, Hanrahan, J.P., Kummen, E., Duffy, P. e Boland, M.P., 2004. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronised oestrus. *Animal Reproduction Science*, **84** (3-4), 359-368.
- Driancourt, M.A. e Fry, R.C., 1992. Effect of superovulation with pFSH or PMSG on growth and maturation of the ovulatory follicles in sheep. *Animal Reproduction Science*, **27**, 279-292.
- Driancourt, M.A., 2012. Chromogest C.R. e Folligon. In: [http://www.merck-animal-health.com/binaries/Chronogest\\_and\\_Folligon-tcm50-262063.ppt](http://www.merck-animal-health.com/binaries/Chronogest_and_Folligon-tcm50-262063.ppt) (Consultado a10/04/2025)
- Dunn, O.J., 1961. Multiple comparisons among means. *Journal of the American Statistical Association*, **56**, 52-64.
- Eastwood, K.C. e McDonald, M.F., 1975. Reproductive differences in two-year-old Romney and Border Leicester × Romney ewes after gonadotrophin treatment. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, **18**, 109-117.
- El Almiri, B. e Rahim, A., 2024. Exploring endogenous and exogenous factors for successful artificial insemination in sheep: A global overview. *Veterinary Sciences*, **11**, 86.
- Eldomany, W., Abdel-Khalek, A.-K., Khalil, W., Yousif, A., El-Saidy, B. e Hassan, M., 2023. Influence of long and short-term progesterone administration on estrous synchronization and reproductive performance in ewes during may season. *Journal of Advanced Veterinary Research*, **13** (1), 88-93.

- El-Shahat, K.H.M. e Alsafy A.M., 2009. The anatomical structures of sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating catheter into the uterine lumen. *Veterinary Medicine Journal of Giza*, **57** (2), 211-222.
- Ezzat, A.A., Ahmed, M.N., Elabdeen, M.A.E.Z. e Sabry, A.M., 2016. Estrus synchronization in Ossimi Sheep by progestins. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, **51** (1), 207-214.
- Faigl, V. Vass, N., Jávör, A., Kulcsár, M., Solti, L., Amiridis, G. e Cseh, S., 2012. Artificial insemination of small ruminants - A review. *Acta Veterinária Hungarica*, **60** (1), 115-129.
- Fang, Y., Zhong, R., Chen, L., Feng, C., Sun, H. e Zhou, D., 2015. Effects of astaxanthin supplementation on the sperm quality and antioxidant capacity of ram semen during liquid storage. *Small Ruminant Research*, **130**, 178-182.
- Ferdowsi, H.R., Vodjgani, M., Gharagozloo, F., Talebkhan Garoussi, M., Niasari Naslaji, A. e Akbarinejad, V., 2020. The effects of eCG injection time on the reproductive performance in Shal ewes treated with short-term synchronization program during the breeding season. *Journal of Veterinary Research*, **75** (1), 109-117.
- Fernandez, J., Bruno-Galarraga, M., Soto, A., de la Sota, R.L., Cueto, M., Gibbons, A.E. e Lacau-Mengido, I., 2018. Hormonal therapeutic strategy on the induction of accessory corpora lutea in relation to follicle size and on the increase of progesterone in sheep. *Theriogenology*, **105**, 184-187.
- Fernandez, J., Bruno-Galarraga, M., Soto, A., de la Sota, R.L., Cueto, M., Lacau-Mengido, I. e Gibbons, A.E., 2019. Effect of GnRH or hCG administration on Day 4 post insemination on reproductive performance in Merino sheep of North Patagonia. *Theriogenology*, **126**, 63-67.
- Fernández, J., Bruno-Galarraga, M.M., Cueto, M.I., Bonadeo, N., Notaro, U., Telésforo, A.S., Luzbel, R.S., Salvetti, N.R., Bianchi, C.P., Cristina, C., Ortega, H.H., Gibbons, A.E. e Lacau-Mengido, I.M., 2024. Changes on corpus luteum structure and progesterone synthesis pathway after hCG or GnRH treatment during the early luteal phase in sheep. *Animal Reproduction Science*, **265**, 107474.
- Fernandez-Abella, D., Preve, M.O. e Villegas, N., 2003. Insemination time and dilution rate of cooled and chilled ram semen affects fertility. *Theriogenology*, **60**, 21-26.
- Ferra, J.C e Sereno, J.R.B., 2006. Inseminação artificial em ovinos. EMBRAPA Cerrados, Planaltina, Goiás, Brasil, 26 p.
- Ferra, J.C. e Sereno, J.R.B. 2006. Inseminação artificial em ovinos. Embrapa Cerrados, Editora D.D.E.C., Planaltina, Brasil, 26 p.

- Fierro, S., Olivera-Muzante, J., Gil, J. e Viñoles, C., 2011. Effects of prostaglandin administration on ovarian follicular dynamics, conception, prolificacy, and fecundity in sheep. *Theriogenology*, **76** (4), 630-639.
- Fleisch, A., Werne, S., Heckendorn, F., Hartnack, S., Piechotta, M., Bollwein, H., Thun, R. e Janett, F., 2012. Comparison of 6-day progestagen treatment with Chronogest® CR and Eazi-breed™ CIDR® G intravaginal inserts for estrus synchronization in cyclic ewes. *Small Ruminant Research*, **107**, 141-146.
- Flis, Z. e Molik, E., 2024. Characteristics of selected behavioural patterns in sheep and goats. *Animal Science and Genetics*, **20** (3), 47-58.
- Fonseca, J.F. da, Cruz, R.C., Pinto P. H.N. e Facó, O., 2010. Inseminação artificial em pequenos ruminantes. *In: I Workshop sobre Ciência Animal na Bahia, BA-UESC, Ilhéus, Bahia, Brasil*, 1-30.
- Fonseca, J.F. da, Souza-Fabjan, J.M.G., Oliveira, M.E.F., Cruz, R.C., Esteves, L.V., Paiva, M.P.S.L.M. de, Brandão, F.Z. e Mancio, A.B., 2017. Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestagen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. *Reproductive Biology*, **17** (4), 363-369.
- Forcada, F., 2010. Control de la actividad reproductiva mediante el tratamiento con melatonina. *In: Manejo reproductivo en ganado ovino*. A.M. Abecia e F. Forcada (Editores), Editora Servet, Saragoça, Espanha, 195 p.
- Forcada, F., Abecia, J.A. e Sierra, I., 1992. Seasonal-changes in estrus activity and ovulation rate in Rasa-Aragonesa ewes maintained at 2 different body condition levels. *Small Ruminant Research*, **8** (4), 313-324.
- Fornazari, R.R., 2018. Controlo reprodutivo e inseminação artificial com sémen fresco e refrigerado em ovelhas Awassi x Sarda em maio. Efeitos da administração de melatonina exógena, de dois tratamentos progestagénicos curtos + eCG, de dois diluidores seminais e de duas técnicas de preservação de sémen. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 90 p. (*Tese de Mestrado*)
- Freitas, V.J. de F. e Rubianes, E., 2004. Preparación de las hembras. Detección e control del estro y de la ovulación. *In: Reproducción ovina y caprina*. E.G. Aisen (Editor), Cap. 7, Intermédica Editora, São Paulo, Brasil, 216 p.
- Fukui, Y., Kohno, H., Okabe, K., Katsuki, S., Yoshizawa, M., Togari, T. e Watanabe, H., 2010. Factors affecting the fertility of ewes after intrauterine insemination with frozen-thawed semen

- during the non-breeding season. *Journal of Reproduction and Development*, **56** (4), 460-466.
- Galarza, D.A., López-Sebastián, A. e Santiago-Moreno, J., 2020. Supplementing a skimmed milk-egg yolk-based extender with L-carnitine helps maintain the motility, membrane integrity and fertilizing capacity of chilled ram sperm. *Reproduction in Domestic Animal*, **55**, 805-813.
- Garcia, A.J.D., Landete, T.C. e Gallego, L.M., 2004. Manejo reproductivo para la producción de carne y leche. *In: Reproducción ovina y caprina*. E.G. Aisen (Editor), Cap. 4, Intermédica Editora, São Paulo, Brasil, 216 p.
- Garcia-Garcia, R.M., 2012. Integrative control of energy balance and reproduction in females. *ISRN Veterinary Science*, **2012**, artículo ID 121389, 13 p.
- García-Ispuerto, I., López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J.L., Nogareda, C. e López-Béjar, M., 2007. Factors affecting the fertility of high producing dairy herds in Northeastern Spain. *Theriogenology*, **67**, 632-638.
- Gatti, M. e Ungerfeld, R., 2012. Intravaginal sponges to synchronize estrus decrease sexual attractiveness in ewes. *Theriogenology*, **78**, 1796-1799.
- Gibb, Z. e Aitken, R.J., 2016. Recent developments in stallion semen preservation. *Journal of Equine Veterinary Science*, **43**, S29-S36.
- Gibbons, A. e Cueto, M., 2012. Investigación, desarrollo e implementación de la inseminación artificial y la transferencia de embriones en las especies ovina y caprina. *Spermova*, **2** (1), 1-5.
- Gibbons, A.E., Fernandez, J., Bruno-Galarraga, M.M., Spinelli, M.V. e Cueto, M.I., 2019. Technical recommendations for artificial insemination in sheep. *Animal Reproduction*, **16**, 803-809.
- González-Bulnes, A., Garcia, P., Veiga-Lopez, A., Garcia-Garcia, R.M., Ariznavarreta, C. e Sanchez, A., 2005. Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. *Theriogenology*, **63**, 2523-2534.
- González-Bulnes, A., Marquez, E., Lizarraga, H. e Martinez, J.C., 1999. Dose response effects of PMSG on ovulation rate and follicular development in Pelibuey ewes treated with Syncromate-B implants. *Small Ruminant Research*, **31**, 149-155.
- González-Bulnes, A., Menchaca, A., Martin, G. e Martinez, P., 2020. Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep oestrous cycle: where we are and where we should go. *Reproduction Fertility and Development*, **32**, 441-452.

- González-Bulnes, A., Vázquez, M.I. e Pallarés, P., 2010. Métodos de control del ciclo sexual. Progesteragenos y prostaglandinas. *In: Manejo reproductivo en ganado ovino*. A.M. Abecia e F. Forcada (Editores), Editora Servet, Saragoça, Espanha, 195 p.
- González-Maldonado, J., Tejedasartorius, O., Ramírez-Ramírez, A.I. e Gallegos-Sánchez, J., 2023. Reproductive performance of hair sheep under different body conditions and feeding levels. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **58**, e03092.
- Gordon, I., 1997. Controlled reproduction in sheep & goats. Controlled reproduction in farm animals series, Vol. 2, CAB International, Cambridge, Reino Unido, 450 p.
- Granados, L.B.C., Dias, A.J.B. e Sales, M.P., 2006. Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos. *In: Capacitação dos técnicos e produtores do Norte e Noroeste Fluminense em reprodução de caprinos e ovinos*, Rio de Janeiro, Brasil, 54 p.
- Greyling, J.P.C., Kotzé, W.F., Taylor, G.J., Hagendijk, W.J. e Cloete, F., 1994. Synchronization of oestrus in sheep: use of different doses of progestagen, outside the normal breeding season. *South Africa Journal of Animal Science*, **24**, 33-37.
- Güner, B. e Bilen, E.K., 2022. Comparison of fertility parameters in Romanov sheep synchronized with progesterone-based protocol plus PMSG of GnRH. *Turkish Journal of Veterinary Research*, **6** (2), 61-66.
- Gürler, H., Malama, E., Heppelmann, M., Calisici, O., Leiding, C., Kastelic, J.P. e Bollwein, H., 2016. Effects of cryopreservation on sperm viability, synthesis of reactive oxygen species, and DNA damage of bovine sperm. *Theriogenology*, **86**, 562-571.
- Habeeb, H.M.H. e Kutzler, M.A., 2021. Estrus synchronization in sheep and goat. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **37**, 125-137.
- Habibizad, J., Riasi, A., Kohram, H. e Rahami, H.R., 2015. Effect of feeding greater amounts of dietary energy for a short-term with or without eCG injection on reproductive performance, serum metabolites and hormones in ewes. *Animal Reproduction Science*, **160**, 82-89.
- Hafez, E.S.E., Jainundeen, M.R. e Rosnina, Y., 2004. Hormônios, Fatores de crescimento e reprodução. *In: Reprodução Animal*, E.S.E. Hafez e B. Hafez (Editores), Cap. 3, 7ª Edição, Editora Manole, Barueri, Brasil, 513 p.
- Hameed, N., Khan, M.I-U.-R., Zubair, M. e Andrabi, S.M.H., 2021. Approaches of estrous synchronization in sheep: developments during the last two decades: a review. *Tropical Animal Health and Production*, **53** (5), artigo 485.

- Hameed, N., Zubair, M., Ahmad, N., Durrani, A.Z. e Khan, M.I-U.-R., 2024. Effect of cooling rate, extender type, and storage temperature on chilled sperm quality and pregnancy rate in Kail sheep. *Small Ruminant Research*, **231**, 107202.
- Hashemi, M., Safdarian, M. e Kafi, M., 2006. Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Ruminant Research*, **65**, 279-283.
- Hashim, N.H., Syafir e Sembiring, M., 2013. Time of PMSG administration: Effect on progesterone and estradiol concentration in synchronized ewes. *Biomedical Research*, **24** (1), 7-12.
- Hernández-Marín, J.A., Pérez-Hernández, P., Cortez-Romero, C., Pro-Martínez, A. e Gallegos-Sánchez, 2022. Focused nutrition during oestrus synchronization in Pelibuey ewes with different body conditions. *South African Journal of Animal Science*, **52** (4), 6 p.
- Hervé, V., Roy, F., Bertin, J., Guillou, F. e Maurel, M.C., 2004. Anti-equine Chorionic Gonadotropin (eCG) antibodies generated in goats treated with eCG for the induction of ovulation modulate the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone bioactivities of eCG differently. *Endocrinology*, **145**, 294-303.
- Hristova, Ts., 2007. Opportunities for controlling the cyclic activity in sheep. Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan, Bulgária. (*Tese de Doutoramento*)
- Hristova, Ts., Stoycheva, S., Maslev, Ts. e Ralchev, I., 2011. The influence of the time of implementation of PMSG on some of the reproductive parameters in sheep with synchronized oestrus. *Biotechnology in Animal Husbandry*, **27** (4), 1845-1850.
- Husein, M.Q. e Ababneh, M.M., 2008. A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology*, **69** (3), 376-383.
- Husein, M.Q., Bailey, M.T., Ababneh, M.M., Romano, J.E., Crabo, B.G. e Wheaton, J.E., 1998. Effect of eCG on the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside the breeding season. *Theriogenology*, **49** (5), 997-1005.
- Inskeep, E.K. e Dailey, R.A., 2005. Embryonic death in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **21** (2), 437-461.
- Iraqi J Vet Sci 16:73–79
- Jiménez-Rabadán, P., Soler, A.J., Ramón, M., García-Álvarez, O., Maroto-Morales, A., Iniesta-Cuerda, M., Fernández-Santos, M.R., Montoro, V., Pérez-Guzmán, M.D. e Garde, J.J., 2016.

Influence of semen collection method on sperm cryoresistance in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, **167**, 103-108.

Johnson, S.K., Dailey, Inskip, E.K. e Lewis, P.E., 1996. Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology*, **13**, 69-79.

Kaabi, M., Alvarez, M., Anel, E., Chamorro, C.A., Boixo, J.C., de Paz, P. e Anel, L., 2006. Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: A postmortem study. *Theriogenology*, **66** (8), 1876-1883.

Kacar, C., Kamiloglu, N.N., Gurbulak, K., Pancarci, S.M., Gungor, O., Guvenc, K. e Saban, E., 2008. The effect of administration of testosterone antibody, -carotene and vitamin E on multiple pregnancy and MDA (Malondialdehyde) in Tuj breed sheep in non-breeding. *Kafkas University Veterinary Fakultesi Dergisi*, **14** (1), 51-56.

Karagiannidis, A., Varsakeli, S., Karatzas, G. e Brozos, C., 2001. Effect of time of artificial insemination on fertility of progestagen and PMSG treated indigenous Greek ewes, during non-breeding season. *Small Ruminant Research*, **39**, 67-71.

Karami, H., Seyedhashemi, S., Torki, M., Kelidari, H. e Abdolmohammadi, A., 2012. Effects of repeated administration of hCG on follicular and luteal characteristics and serum progesterone concentrations in eCG-superovulated Sanjabi ewes. *Tropical Animal Health and Production*, **44** (8), 1865-1871.

Kaya, S., Kaçar, C., Kaya, D. e Aslan, S., 2013. The effectiveness of supplemental administration of progesterone with GnRH, hCG and PGF<sub>2α</sub> on the fertility of Tuj sheep during the non-breeding season. *Small Ruminant Research*, **113**, 365-370.

Kershaw, L.M., Khalid, M., McGowan, M.R., Ingram, K., Leethongdee, S., Wax, G. e Scaramuzzi, Rex J., 2005. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*, **64** (5), 1225-1235.

Knights, M., Maze, T.D., Bridges, P.J., Lewis, P.E. e Inskip, E.K., 2001. Short-term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrous ewes. *Theriogenology*, **55**, 1181-1191.

Konyak, P., Mandal, A., Mondal, M., Bhakat, C., Das, S.K., Rai, S., Ghosh, M.K. e Karunakara, M., 2018. Preservation of Black Bengal buck semen in soybean lecithin based chemically defined extender. *Indian Journal of Animal Research*, **52** (8), 1151-1154.

- Konyali, C., Tomas, C., Blanch, E., Gomez, E.A., Graham, J.K. e Mocé, E., 2013. Optimizing conditions for treating goat semen with cholesterol-loaded cyclodextrins prior to freezing to improve cryosurvival. *Cryobiology*, **67**, 124-131.
- Korkmaz, M.K. e Yaprak, M., 2022. The effect of different estrus synchronization methods on reproductive performance in laparoscopic artificial insemination program in Morkaraman sheep. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, **10** (2), 247-253.
- Koyuncu, M. e Alticekic, S.O., 2010. Effects of progestagen and PMSG on estrous synchronization and fertility in Kivircik ewes during natural breeding season. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, **23** (3), 308-311.
- Kulaksiz, R., Çebi, Ç. e Akçay, E., 2012. The effect of different extenders on the motility and morphology of ram sperm frozen or stored at 4°C. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, **36**, 177-182.
- Kuru, M., Kuru, B.B., Kacar, C., Demir, M.C. e Cetin, N., 2022. Effect of oestrus synchronization with different lengths of progesterone-impregnated sponges and equine chorionic gonadotropin on reproductive efficiency in Romanov ewes during the non-breeding season. *Acta Veterinaria Brasilica*, **91**, 243-250.
- Langford, G.A., Marcus, G.J. e Batra, T.R., 1983. Seasonal effects of PMSG and number of inseminations on fertility of progestogen-treated sheep. *Journal of Animal Science*, **57** (2), 307-312.
- Larsen, J.W.A., 2024. Reproductive physiology of sheep. MSD Veterinary Manual. In: <https://www.msdsvetmanual.com/management-and-nutrition/management-of-reproduction-sheep/reproductive-physiology-of-sheep> (Consultado a 20/05/2025)
- Leão, A.S., Mateus, O., Maurício, R., Pereira, F., Correia, T., Carloto, A., Quintas, H., Dendena, M. e Valentim, R., 2016. Maneio alimentar em ovinos e caprinos. In: Redovicapra, ACOB/ANCRAS, Bragança/Mirandela, Portugal, 22 p. [<http://www.acob.org.pt/index.php/artigos-tecnicos/28-maneio-alimentar-em-ovinos-e-caprinos>] (Consultado a 22/05/2025)
- Leão, A.S.M., 2017. Ensaio da atividade reprodutiva e inseminação artificial de cabras de raça Serrana – ecótipo Transmontano – em Maio. Avaliação dos efeitos da dose eCG, do diluidor e do processo de preservação do sémen. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 50 p. (*Tese de Mestrado*)
- Leboeuf, B., Restall, B. e Salamon, S., 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, **62**, 113-141.

- Letelier, C.A., Contreras-Solis, I., García-Fernández, R.A., Ariznavarreta, C., Tresguerres, J.A., Flores, J.M. e González-Bulnes, A., 2009. Ovarian follicular dynamics and plasma steroid concentrations are not significantly different in ewes given intravaginal sponges containing either 20 or 40 mg of fluorogestone acetate. *Theriogenology*, **71**, 676-682.
- Leyva, V., Buckrell, B.C. e Walton, J.S., 1998. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestin. *Theriogenology*, **50**, 395-416.
- Lima, F.R.G., 2010. Pesquisa de novo método de congelação para sémen de ovinos Santa Inês. Universidade Federal do Ceará/Universidade Federal da Paraíba/Universidade Federal Rural de Pernambuco, Fortaleza, Brasil, 121 p. (*Tese de Doutorado*)
- Lone, F.A., Malik, A.A., Khatun, A., Shabir, M. e Islam, R., 2020. Returning of cyclicity in infertile Corriedale sheep with natural progesterone and GnRH based strategies. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, **5** (1), 67-70.
- López-Sebastian, A., González-Bulnes, A., Carrizosa, J.A., Urrutia, B., Díaz-Delfa, C., Santiago-Moreno, J. e Gómez-Brunet, A., 2007. New estrus synchronization and artificial insemination protocol for goats based on male exposure, progesterone and cloprostenol during the non-breeding season. *Theriogenology*, **68**, 1081-1087.
- Macías, A., Martín, E., Laviña, A., Ferrer, L.M., Lidón, I., Rebollar, R. e Tejedor, M.T., 2020. Cervical artificial insemination in sheep: sperm volume and concentration using an antiretrograde flow device. *Animal Reproduction Science*, **221**, 106551.
- Madrigali, A., Rota, A., Panzani, D., Castellani, S., Shawahina, M., Hassan, A., Di Lacovo, F., Rossignoli, C. e Camillo, F., 2021. Artificial insemination in sheep with fresh diluted semen: Comparison between two different semen extenders and management protocols. *Tropical Animal Science Journal*, **44** (3), 255-260.
- Maeini, I.M.M., Maghaddam, A.A., Bahira, A. e Hajarian, I.H. 2007. Effects of breed and progestin source on estrus synchronization and rates of fertility and fecundity in Iranian Sanjabi and Lori ewes. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **10** (21), 3801-3807.
- Maksimovic, N., Milovanovic, A., Barna, T., Petrovic, V.C., Pantelic, V., Lazarevic, M. e Stojanov, 2018. Short-term liquid storage of ram semen in various extenders. *South Africa Journal of Animal Science*, **48** (4), 717-723.
- Manes, J., Campero, C., Hozbor, F., Alberio, R. e Ungerfeld, R., 2015. Vaginal histological changes after using intravaginal sponges for oestrous synchronization in anoestrous ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, **50**, 270-274.

- Manes, J., Fiorentino, M.A., Kaiser, G., Hozbor, F., Alberio, R., Sanchez, E. e Paolocchi, F., 2010. Changes in the vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes. *Small Ruminants Research*, **94**, 201-204.
- Manes, J., Fiorentino, M.A., San Martino, S. e Ungerfeld, R., 2018. Changes in the vaginal microbiota in ewes after insertion of intravaginal sponges at different stages of the oestrous cycle. *Livestock Science*, **208**, 55-59.
- Manes, J., Hozbor, F., Alberio, R. e Ungerfeld, R., 2014. Intravaginal placebo sponge affects negatively the conception rate in sheep. *Small Ruminant Research*, **120**, 108-111.
- Manes, J., Ríos, G., Fiorentino M.A. e Ungerfeld, R., 2016. Vaginal mucus from ewes treated with progestogen sponges affects quality of ram spermatozoa. *Theriogenology*, **85**, 856-861.
- Manjunath, P., 2012. New insights into the understanding of the mechanism of sperm protection by extender components. *Animal Reproduction*, **9** (4), 809-815.
- Martemucci, G. e D'Alessandro, A.G., 2011. Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF<sub>2α</sub>, GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. *Animal Reproduction Science*, **123** (1-2), 32-39.
- Martin, G.B., Milton, J.B.T., Davidson, R.H., Banchemo, G.E., Lindsay, D.R. e Blache, D., 2004. Natural methods of increasing reproductive efficiency in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, **82-83**, 231-246.
- Martinez, M.F., McLeod, B., Tattersfield, G., Smaill, B., Quike, L.D. e Juengel, J.L., 2015. Successful induction of oestrus, ovulation and pregnancy in adult ewes and ewe lambs out of the breeding season using a GnRH + progesterone oestrus synchronisation protocol. *Animal Reproduction Science*, **155**, 28-35.
- Martinez-Ros, P. e Gonzalez-Bulnes, A., 2019. Efficiency of CIDR-based protocols including GnRH instead of eCG for estrus synchronization in sheep. *Animals*, **9** (4), 146.
- Martinez-Ros, P., Astiz, S., Garcia-Rosello, E., Rios-Abellan, A. e González-Bulnes, A., 2018a. Effects of short-term intravaginal progestagens on the onset and features of estrus, preovulatory LH surge and ovulation in sheep. *Animal Reproduction Science*, **197**, 317-323.
- Martinez-Ros, P., Rios-Abellan, A. e Gonzalez-Bulnes, A., 2018b. Influence of progesterone-treatment length and eCG administration on appearance of estrus behavior, ovulatory success and fertility in sheep. *Animals*, **9** (1), 1-9.
- Martínez-Tinajero, J.J., Izaguirre-Flores, F., Sánchez-Orozco, L., García-Castillo, C.G., Martínez-Priego, G. e Torres-Hernández, G., 2007. Comportamiento reproductivo de ovejas

barbados barriga negra sincronizadas con MAP y diferentes tiempos de aplicación de eCG durante la época de baja fertilidad. *Revista Científica, FCV-LUZ*, **XVII** (1), 47-52.

Martins, G., Figueira, L., Penna, B., Brandão, F., Vargas, R., Vasconcelos, C. e Lilienbaum, W., 2009. Prevalence and antimicrobial susceptibility of vaginal bacteria from ewes treated with progestin-impregnated intravaginal sponges. *Small Ruminant Research*, **81**, 182-184.

Martinuk, S.D., Manning, A.W., Black, W.D. e Murphy, B.D., 1991. Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine chorionic gonadotropin in vivo. *Biology Reproduction*, **45**, 598-604.

Mata-Campuzano, M., Álvarez-Rodríguez, M., Tamayo-Canul, J., López-Urueña, E., de Paz, P., Anel, L., Martínez-Pastor, F. e Álvarez, M., 2014. Refrigerated storage of ram sperm in presence of Trolox and GSH antioxidants: effect of temperature, extender and storage time. *Animal Reproduction Science*, **151** (3-4), 137-47.

Mateus, O., Afonso, P., Quintas, H., Santos, L., Correia, T., Álvaro, A., Silva, D. e Valentim, R., 2022. Tratamentos curtos de sincronização de cios com FGA ou CIDR e eCG e seus efeitos sobre a taxa de fertilidade pós-inseminação artificial cervical em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. In: IV Congresso Nacional de Escolas Superiores Agrárias, Escola Superior Agrária de Santarém, Santarém, Portugal, P1202, 240 p.

Mateus, O.J.P., 2014. Controlo reprodutivo em ovelhas Awassi x Sarda. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 44 p. (*Tese de Mestrado*)

Maurel, M., Roy, F., Herve, V., Bertin, J., Vaiman, D., Cribiu, E., Manfredi, E., Bouvier, F., Lantier, I., Boue, P. e Guillou, F., 2003. Immune response to equine Chorionic Gonadotropin used for the induction of ovulation in goats and ewes. *Gynécologie, Obstétrique e Fertilité*, **31**, 766-769.

Mehr, M.R.-A., Chambary, B. e Hossein-Zadeh, N.G., 2013. Effect of different diluents and storage time on field fertility of cooled ram semen after vaginal insemination. *Small Ruminant Research*, **115**, 82-85.

Menchaca, A. e Rubianes, E., 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, **16**, 403-414.

Menchaca, A., Santos Neto, P.C. e Cuadrado, F., 2017. Estrous synchronization treatments in sheep: Brief update. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **41** (1), 340-344.

Menchaca, A., Vinariño, M., Pinczak, A., Kmaid, S. e Saldaña, J.M., 2009. Progesterone treatment, FSH plus eCG, GnRH administration, and day 0 protocol for MOET programs in sheep. *Theriogenology*, **72** (4), 477-483.

- Mendoza, N., Casao, A., Domingo, J., Quintín, F., Lavina, A., Fantova, E., Cebrián-Pérez, J.Á., Muino-Blanco, T. e Pérez-Pe, R., 2021. Influence of non-conventional sperm quality parameters on field fertility in ovine. *Frontiers: Veterinary Science*, **8**, 650572.
- Mirshamsollahi, A., 2016. Comparison of different methods of oestrus synchronization on reproductive performance of Farahani sheep in Iran. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, **6** (4), 849-853.
- Moghaddam, A. e Rahimi-Feyli, P., 2023. Comparison of progestagen sponges and progesterone CIDRs short-term treatments in terms of estrous synchronization and reproductive performance during the non-breeding season of Sanjabi ewes. *Journal of Veterinary Medical Research*, **30** (2), 55-60.
- Mohamad, S., Haron, A. W., Rosnina, Y., Abu Bakar, M. Z. e Abdul, M., 2014. Effect of high doses of equine Chorionic Gonadotrophin (eCG) treatments on follicular developments, ovulation and pregnancy rate in Boer goats. *African Journal of Biotechnology*, **13**, 1374-1378.
- Mohan, 2017. Comparative study of reproductive efficiency in ewes synchronized with vaginal sponges and CIDR during breeding and non-breeding seasons. *The Pharma Innovation Journal*, **6** (4), 75-79.
- Mohtar, M.S.M., Haron, A.W., Yussof, R., Bakar, M.Z.A. e Malik, A., 2014. Effect of high dosis of equine Chorionic Gonadotrophin (eCG) treatments on follicular developments, ovulation and pregnancy rate in Boer goats. *African Journal of Biotechnology*, **13** (12), 1374-1378.
- Morrell, J.M., 2011. Artificial insemination: Current and future trends. *In: Artificial insemination in farm animals*. M. Manafi (Editor), InTech, Rijeka, Croácia, 312 p.
- Mosaad, G.M. e Derar, D.R., 2012. Effect of dietary energy and phosphorus on nutrients digestibility, blood constituents, and ovarian structures in ewes. *Veterinary World*, **2** (12), 456-461.
- Motlomelo, K.C., Greyling, J.P.C. e Schwalbach, L.M.J., 2002. Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. *Small Ruminant Research*, **45** (1), 45-49.
- Moura, A.A., Andrade, C.R., Souza, C.E.A., Rêgo, J.P.A., Martins, J.A.M. Oliveira, R.V. e Menezes, E.B.S., 2011. Proteínas do plasma seminal, funções espermáticas e marcadores moleculares da fertilidade. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **35** (2), 139-144.
- Moussa, M., Martinet, V., Trimeche, A., Tainturier, D. e Anton, M., 2002. Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology*, **57**, 1695-1706.

- Muiño-Blanco, T., Pérez-Pé, R. e Cebrián-Pérez, J.A., 2008. Seminal plasma proteins and sperm resistance to stress. *Reproduction in Domestic Animals*, **4**, 18-31.
- Murphy, B.D. e Martinuk, S.D., 1991. Equine chorionic gonadotrophin. *Endocrine Reviews*, **12**, 27-44.
- Murphy, B.D., 2012. Equine Chorionic Gonadotropin: an enigmatic but essential tool. *Animal Reproduction*, **9** (3), 223-230.
- Myers, A. e Kasimanickam, R., 2025. Laparoscopic artificial insemination in sheep: review and cost benefit analysis. *Clinical Theriogenology*, **17**, 11080.
- Nancarrow, C., 1994. Embryonic mortality in ewe and doe. *In: Embryonic mortality in domestic species*, M. Zavy e R. Geisat (Editores), E-Publishing Inc., Dover, RU, 79-97.
- Naqvi, S.M.K., Maurya, V.P., Joshi, A., Sharma, R.C. e Mittal, J.P., 2002. Production of crossbred lambs through artificial insemination of non-prolific medium size Malpura and Avikalini ewes using fresh diluted semen of prolific micro size Garole rams. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, **15**, 633-636.
- Neto, B.M.C., 2009. Sincronização da ovulação utilizando hormônio folículo estimulante em substituição a gonadotrofina coriônica em ovelhas Santa Inês. Universidade Estadual do Ceará, Ceará, Brasil, 49 p. (*Tese de Mestrado*)
- Newton, J.E., Betts, J.E. e Large, R.V., 1970. Increasing litter size in three breeds of sheep by superovulation. *Journal of Agricultural Science*, **75**, 355-360.
- Nöel, B., Bister, J.L., Pierquin, B. e Paquay, R., 1994. Effects of FGA and PMSG on follicular growth and LH secretion in Suffolk ewes. *Theriogenology*, **41**, 719-727.
- Nogueira, D.M., Júnior, E.S.L., Peixoto, R.M. de, Christilis, M., Martins, S.R. e Monte, A.P.O. do, 2011. Using the same CIDR up to three times for estrus synchronization and artificial insemination in dairy goats. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, **33** (3), 321-325.
- Nosrati, M., Tahmorespoor, M., Vatandoost, M. e Behgar, M., 2011. Effects of PMSG doses on reproductive performance of Kurdi ewes artificially inseminated during breeding season. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, **1** (2), 125-129.
- Núñez-Olivera, Castro, T. de, García-Pintos, C., Bó, G., Piaggio, J. e Menchaca, A., 2014. Ovulatory response and luteal function after eCG administration at the end of a progesterone and estradiol' based treatment in postpartum anestrous beef cattle. *Animal Reproduction Science*, **146** (3-4), 111-116.

- O'Hara, L., Hanrahan, J., Richardson, L., Donovan, A., Fair, S., Evans, A.C e Lonergan, P., 2010. Effect of storage duration, storage temperature, and diluent on the viability and fertility of fresh ram sperm. *Theriogenology*, **73** (4), 541-549.
- Okulmus, C. e Atakisi, E., 2024. Concentrations of plasma estradiol, progesterone, melatonin, serotonin and nitric oxide in Tuj ewes after estrus synchronization in and out of breeding season. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, **75** (2), 7227-7234.
- Oliveira, J.K., Martins, G., Esteves, L.V., Penna, B., Hamond, C., Fonseca, J.F., Rodrigues, A.L., Brandão, F.Z. e Lilenbaum, W., 2013. Changes in the vaginal flora of goats following a short-term protocol of oestrus induction and synchronisation with intravaginal sponges as well as their antimicrobial sensitivity. *Small Ruminant Research*, **113**, 162-166.
- Olivera-Muzante, J., Gil, J., Fierro, S., Menchaca, A. e Rubianes, E., 2011. Alternatives to improve a prostaglandin-based protocol for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, **76** (8), 1501-1507.
- Omontese, B.O., Rekwot, P.I. Rwaan, J.S., Ate, I.U. e Makun, H.J., 2014. Induction of oestrus in Nigerian Ouda ewes with different oestrus synchrony protocols. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **165** (7-8), 240-244.
- Ozyurtlu, N., Kucukaslan, I. e Cetin, Y., 2010. Characterization of oestrous induction response, oestrous duration, fecundity and fertility in Awassi ewes during the non-breeding season utilizing both CIDR and intravaginal sponge treatments. *Reproduction in Domestic Animals*, **45**, 464-467.
- Padilha, R.T., 2007. Indução do estro/ovulação e fertilidade em ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com diferentes dispositivos vaginais. Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Brasil, 76 p. (*Tese de Mestrado*)
- Palacín, I., Yániz, J.L., Fantova, E., Blasco, M.E., Quintín-Casorrán, F.J., Sevilla-Mur, E. e Santolaria, P., 2012. Factors affecting fertility after cervical insemination with cooled semen in meat sheep. *Animal Reproduction Science*, **132**, 139-144.
- Palacios, C. e Abecia, J.A., 2015. Meteorological variables affect fertility rate after intrauterine artificial insemination in sheep in a seasonal-dependent manner: A 7-year study. *International Journal of Biometeorology*, **59**, 585-592.
- Palacios, C., Abecia, J.A., Plaza, J., Hidalgo, C. e de la Fuente, L.F., 2022. Efficiency of artificial insemination at natural estrus in organic Churra ewes. *Veterinary Sciences*, **9** (7), 370.

- Palacios, C.R., 2010. Manejo del semen e inseminación artificial. *In: Manejo reproductivo en ganado ovino*. A.M. Abecia e F. Forcada. (Editores), Editora Servet, Saragoça, Espanha, 195 p.
- Paula, I.J.A., 2023. Controlo reproductivo e inseminação artificial cervical com sémen refrigerado em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Efeitos da dose de PGF<sub>2α</sub>, e do tempo de conservação do sémen a 5°C. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 41 p. *(Tese de Mestrado)*
- Paulenz, H., Söderquist, L., Pérez-Pé, R. e Berg, K.A., 2002. Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. *Theriogenology*, **57**, 823-836.
- Payan, M., Niasari-Naslaji, A., Samani, H.S., Darbandsari, M., Alijani, A., Baninajar, M. e Ganjkanlou, M., 2022. The time of eCG administration in progesterone injection-based estrus synchronization protocol could affect the time of estrus expression in ewes during non-breeding season. *Small Ruminant Research*, **216**, 106814.
- Pera, D.M., 2021. Sincronização ovárica e inseminação artificial em ovelhas cruzadas Awassi x Sarda. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal, 64 p. *(Tese de Mestrado)*
- Pineda-Quiroga, C., Granado-Tajada, I., Basterra-García, A. e Ugarte, E., 2024. Environmental and additive genetic factors that affect artificial insemination success in Latxa dairy sheep breed. *Livestock Science*, **289**, 105580.
- Pini, T., 2018. Studies on the modification of ram spermatozoa by ejaculation and cryopreservation and the effects of Binder of Sperm Proteins. Faculty of Science, The University of Sydney, Sydney, Austrália, 198 p. *(Tese de Doutoramento)*
- Plante, G., Lusignan, M.F., Lafleur, M. e Manjunath, P., 2015. Interaction of milk proteins and Binder of Sperm (BSP) proteins from boar, stallion and ram semen. *Reproductive Biology and Endocrinology*, **13**, 92.
- Ponsart, C., Gérard, O. e Caplin, S., 2004. L'insémination: historique, état des lieux chez l'animal. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, **32** (10), 880-886.
- Powell, M., Kaps, M., Lamberson, W. e Keisler, D., 1996. Use of melengestrol acetate-based treatments to induce and synchronize estrus in seasonally anestrous ewes. *Journal of Animal Science*, **74**, 2292-2302.

- Purdy, P.H., Spiller, S.F., McGuire, E., McGuire, K., Koepke, K., Lake, S. e Blackburn, H.D., 2020. Critical factors for non-surgical artificial insemination in sheep. *Small Ruminant Research*, **191**, 106179.
- Quereda, J.J., García-Roselló, E., Barba, M., Mocé, M.L., Gomis, J. e Jiménez-Trigos, E., 2020. Use of probiotics in intravaginal sponges in sheep: a pilot study. *Animals*, **10**, 719.
- Quintas, H., Mateus, O., Santos, L., Correia, T., Afonso, P., Silva, D., Álvaro, A. e Valentim, R., 2022. Tratamentos curtos de sincronização de cios com FGA ou CIDR e eCG e seus efeitos sobre a taxa de fertilidade pós-inseminação artificial cervical em cabras Serranas. *In: IV Congresso Nacional de Escolas Superiores Agrárias, Escola Superior Agrária de Santarém, Santarém, Portugal, P110, 239 p.*
- Quintas, H., Silva, L., Mateus, O., Ramos, J.J., Ferrer, L.M., Ruiz, H., Lacastra, D. e Valentim, R., 2021. Synchronization of estrous using FGA internal pessaries and CIDR in Churra Galega Bragançana ewes. *In: ECRHM Communications, ISVA Virtual Meeting 2021 (held virtually), OP30, 37 p.*
- Quintero-Elisea, J.A., Macías-Cruz, U., Álvarez-Valenzuela, E.D., Correa-Calderón, A., González-Reyna, A., Lucero-Magaña, F.A., Soto-Navarro, S.A. e Avendaño-Reyes, L., 2011. The effects of time and dose of Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) on reproductive efficiency in hair sheep ewes. *Tropical Animal Health Production*, **43**, 1567-1573.
- Quintero-Elisea, J.A., Olgúin-Arredondo, H.A., Velázquez-Morales, J.V., Garay-Martínez, J.R., Vázquez-Rocha, L., Limas-Martínez, A.G. e Joaquín-Cancino, S., 2022. Effect of breed, breeding season, eCG dose, and eCG application time on the estrous cycle of hair ewe lambs. *Agro Productividad*, **15** (7), 187-194.
- Quirke, J.F., Meyer, H.H., Lahlou-Kassi, A., Hanrahan, J.P., Bradford, G.E. e Stabenfeldt, G.H., 1987. Natural and induced ovulation rate in prolific and non-prolific breeds of sheep in Ireland, Morocco and New Zealand. *Journal of Reproduction & Fertility*, **81**, 309-316.
- Rahim, A., Salhi, S., Nora, K., Essamadi, A. e El Amiri, B., 2023. Ameliorative effects of plant extracts on ram semen preservation and its fertilization ability. *African and Mediterranean Agricultural Journal*, **138**, 19-34.
- Rahman, A.N.M.A., 2006. Hormonal changes in the uterus during pregnancy-lessons from the ewe: A review. *Journal of Agriculture and Rural Development*, **4** (1), 1-7.
- Rajabi-Toustani, R., Mehr, M.R.-A. e Motamedi-Mojdehi, R., 2021. Reduction of seminal plasma concentration can decrease detrimental effects of seminal plasma on chilled ram spermatozoa. *Animal Reproduction*, **18** (1), e20200211.

- Rateb, S.A., 2018. Influence of omega-3 incorporation in sperm preservation medium on physical and kinematic properties of chilled and cryopreserved ram spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals*, **53**, 1506-1516.
- Richardson, L., Hanrahan, J.P., O'Hara, L., Donovan, A., Fair, S., O'Sullivan, M., Carrington, S.D., Lonergan, P. e Evans, A.C.O., 2011. Ewe breed differences in fertility after cervical AI with frozen-thawed semen and associated differences in sperm penetration and physicochemical properties of cervical mucus. *Animal Reproduction Science*, **129**, 37-43.
- Rizkallah, N., Chambers, C.G., de Graaf, S.P. e Rickard, J.P., 2022. Factors affecting the survival of ram spermatozoa during liquid storage and options for improvement. *Animals*, **12**, 244.
- Robertson, S.A. 2005. Seminal plasma and male factor signaling in the female reproductive tract. *Cell Tissue Research*, **322**, 43-52.
- Robinson, T.J., 1965. Use of progestagen-impregnated sponges inserted intravaginally or subcutaneously for control of the oestrous cycle in the sheep. *Nature*, **206**, 39-41.
- Romano, J.E., 1996. Comparison of fluorgestone and medroxyprogesterone intravaginal pessaries for estrus synchronization in dairy goats. *Small Ruminant Research*, **22** (3), 219-223.
- Romano, J.E., 2004. Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Ruminant Research*, **55**, 15-19.
- Romano, J.E., 2024. Hormonal control of estrus in goats and sheep. MSD Manual, Veterinary manual. In: <https://www.msdvetermanual.com/management-and-nutrition/hormonal-control-of-estrus/hormonal-control-of-estrus-in-goats-and-sheep> (Consultado a 10/04/2025)
- Romano, J.E., Alkar, A. e Amstalden, M., 2017. Onset of luteolytic action of exogenous prostaglandin F<sub>2α</sub> during estrous cycle in goats. *Theriogenology*, **92**, 45-50.
- Romero, T., Balado, J., Althaus, R.L., Beltrán, M.C. e Molina, M.P., 2016. Short communication: drug residues in goat milk after prophylactic use of antibiotics in intravaginal sponges for estrus synchronization. *Journal of Dairy Science*, **99**, 141-145.
- Roshan, N.J., Garoussi, M.T. e Akbarinejad, V., 2023. Evaluation of the effect of melatonin implantation in rams and eCG dose in ewes synchronized by a CIDR-eCG protocol on reproductive performance of Lacaune sheep breed during non-breeding season. *Animal Reproduction Science*, **259**, 107365.

- Rouzkroh, E., Towhidi, A. e Zeinoaldini, S., 2024. Intravaginal sponge or CIDR for short intervals improve vaginal health and reproductive performance in Mghani ewes. *In: <https://ssrn.com/abstract=4984440>* (Consultado a 13 de abril de 2025)
- Rouzkroh, E., Towhidi, A., Zeinoaldini, S. e Emamverdi, M., 2022. Comparing the effects of sponge and CIDR on vaginal health, estrous synchronization, and reproductive performance of ewes. *Journal of Animal Production*, **24** (4), 501-509.
- Rubianes, E., Menchaca, A. e Carbajal, B., 2003. Response of the 1-5 day aged ovine corpus luteum to prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Animal Reproduction Science*, **78**, 47-55.
- Russel, A.J.F., Doney, J.M. e Gunn, R.G., 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *The Journal of Agriculture Science*, **72** (3), 451-454.
- Saacke, R.G., Nadir, S., Dalton, J., Bame, J., DeJarnette, J.M., Defelos, S. e Nebel, R.L., 1994. Accessory sperm evaluation and bull fertility - an update. *In: Proceedings of the 15<sup>th</sup> NAAB Technical Conference on Animal Reproduction and Artificial Insemination*, Milwaukee, EUA.
- Saha, A., Asaduzzaman, M., Akter, S. e Bari, F.Y., 2022. Effect of different preservation time of chilled semen on the fertility of field indigenous ewes. *Agricultural Science Digest*, **42** (2), 223-227.
- Salama, A.A.K., Caja, G., Hamzaoui, S., Badaoui, B., Castro-Costa, A., Façanha, D.A.E., Guilhermino, M.M. e Bozzi, R., 2014. Different levels of response to heat stress in dairy goats. *Small Ruminant Research*, **121**, 73-79.
- Salama, M.S., Ashour, M.A., Taher, E.S., El-kon, I., Sayed, S., Alkeridis, L.A., Stefan, B., Ana-Maria, I., Al-Shuraym, A. e Shukry, M., 2024. Evaluating estrus synchronization and early pregnancy detection in Ossimi sheep: The influence of fluorogestone acetate treatment duration and dosage. *Veterinary and Animal Science*, **24**, 100351.
- Salamon, S. e Maxwell, W.M.C, 2000. Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, **62**, 77-111.
- Salamon, S. e Maxwell, W.M.C., 1995. Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Animal Reproduction Science*, **37** (3-4), 185-249.
- Samartzi, A.F., Boscós, C., Vaini, E. e Tsakalof, P., 1995. Superovulatory response of Chios sheep to PMSG during spring and autumn. *Animal Reproduction Science*, **39**, 215-222.

- Santolaria, P., Palacin, I. e Yaniz, J., 2011. Management factors affecting fertility in sheep. InTech, Rijeka, Croácia, 167-190.
- Santolaria, P., Yaniz, J., Fantova, E., Vicente-Fiel, S. e Palacin, I., 2014. Climate factors affecting fertility after cervical insemination during the first months of the breeding season in Rasa Aragonesa ewes. *International Journal of Biometeorology*, **58**, 1651-1655.
- Santos-Jimenez, Z., Martínez-Ros, P., Encinas, T., Morales-Cruz, J.L., Guerrero-Gallegos, H.Z., Gonzalez-Avalos, R., González-Bulnes, A. e Guillen-Muñoz, J.M., 2022. Ovarian response and fertility after short-term progestagen/eCG treatments are compromised in nulliparous sheep during non-breeding season. *Veterinary Science*, **9** (12), 663, 9 p.
- Santos-Neto, P.C. dos, García-Pintos, C., Pinczak, A. e Menchaca, A., 2015. Fertility obtained with different progestogen intravaginal devices using short-term protocol for fixed-time artificial insemination (FTAI) in sheep. *Livestock Science*, **182**, 125-128.
- Sargison, N.D., Howie, F., Mearns, R., Penny, C.D. e Foster, G., 2007. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* as a perennial cause of abortion in a closed flock of Suffolk ewes. *Veterinary Record*, **160** (25), 875.
- Sargison, N.D., Howie, F., Mearns, R., Penny, C.D. e Foster, G., 2007. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* as a perennial cause of abortion in a closed flock of Suffolk ewes. *Veterinary Record*, **160**, 875-876.
- Sathe, S.R., 2018. Laparoscopic artificial insemination technique in small ruminants - A procedure review. *Frontiers in Veterinary Science*, **5**, 266.
- Scaramuzzi, R.J., Campbell, B.K., Downing J.A., Kendall, N.R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M. e Somchit, A., 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*, **46** (4), 339-354.
- Scaramuzzi, R.J., Downing, J.A., Campbell, B.K. e Cognié, Y., 1988. Control of fertility and fecundity of sheep by means of hormonal manipulation. *Australian Journal of Biological Sciences*, **41**, 37-45.
- Schimpf, U., Caldas-Silveira, E., Katchan, L., Vigier-Carriere, C., Lantier, I., Nachmann, G., Gidlöf, S., Jonasson, A.F., Björndahl, L., Trombotto, S., Druart, X. e Crouzier, T., 2022. Topical reinforcement of the cervical mucus barrier to sperm. *Science Translational Medicine*, **14** (673), eabm2417.
- Scudamore, C., 1988. Intravaginal sponge insertion technique. *Veterinary Record*, **123**, 554.

- Selaive-Villarroel, A.B. e Kennedy, J.P., 1983a. Fertility studies in young and mature merino ewes. 1. Cervical mucus production. *Theriogenology*, **20** (5), 537- 541.
- Selaive-Villarroel, A.B. e Kennedy, J.P., 1983b. Fertility studies in young and mature merino ewes. 2. Sperm transport. *Theriogenology*, **20** (5), 543-547.
- Serrano, M., Climent, E., Freire, F., Martínez-Blanch, J.F., González, C. e Reyes, L., 2020. Influence of the ovine genital tract microbiota on the species artificial insemination outcome. A pilot study in commercial sheep farms. *High-Throughput*, **9**, 16.
- Sevilla, F., Muça, G., Turmalaj, L., Silvestre, M.A., Araya-Zúñiga, I. e Valverde, A., 2025. An overview on extenders used in ram sperm cryopreservation. *Agronomía Mesoamericana*, **36**, artigo 59591.
- Shackell, G.H., Kyle, B. e Littlejohn, R.P., 1990. Factors influencing the success of a large scale insemination programme in sheep. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, **50**, 427-430.
- Sieme, H., Oldenhof, H. e Wolkers, W.F., 2016. Mode of action of cryoprotectants for sperm preservation. *Animal Reproduction Science*, **169**, 2-5.
- Silva, L.T., Maia, M. da S., Aquino, J.J.M. de e Moura, C.E.B. de, 2017. Comparação morfológica da célula espermática equina no sêmen fresco e refrigerado. *In: Anais do Encontro Anual da Biofísica, Recife, Brasil*, 22-25.
- Silva, L.T.V. da, 2025. Controlo reprodutivo e inseminação artificial com sêmen fresco e refrigerado em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Efeitos do dispositivo vaginal (esponjas ou CIDR), do vaginoscópio e do inseminador. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 65 p. (*In Press*)
- Silva, T.P.D., Torreão, J.N. da C., Marques, C.A.T., Araújo, M.J. de, Bezerra, L.R., Dhanasekaran, K.D. e Sejian, V., 2016. Effect of multiple stress factors (thermal, nutritional and pregnancy type) on adaptive capability of native ewes under semi-arid environment. *Journal of Thermal Biology*, **59**, 39-46.
- Simões, J.M.C., 1984. Fisiologia da reprodução dos ungulados domésticos. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Portugal, 623 p.
- Simonetti, L., Ramos, G. e Gardón, J.C., 1999. Estrus presentation and distribution in ewes treated with intravaginal sponges impregnated with Medroxyprogesterone Acetate (MAP) in combination with Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, **36**, 236-239.

- Simonetti, L., Ramos, G. e Gardón, J.C., 2002. Effect of estrus synchronization and artificial insemination on reproductive performance of Merino sheep. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, **39** (3), 143-146.
- Siqueira, A.J.A., 2023. Controlo reprodutivo e inseminação artificial cervical com sémen refrigerado em cabras das raças Serrana, ecótipo Transmontano, e Preta de Montesinho. Efeitos da raça e da lavagem do sémen. Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, Portugal, 55 p. (*Tese de Mestrado*)
- Sirjani, M.A., Shadir, M.H. e Kohram, H., 2011. The effects of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) injection a day prior or at controlled intravaginal drug-releasing (CIDR) removal on multiple births in Afshari ewes. *African Journal of Biotechnology*, **10** (57), 12363-12367.
- Skliarov, P., Pérez, C., Petrusha, V., Fedorenko, S. e Bilyi, D., 2021. Induction and synchronization of estrous in sheep and goats. *Journal of Central European Agriculture*, **22** (1), 39-53.
- Snedecor, G.W. e Cochran, W.G., 1980. Statistical methods. 7ª Edição, Iowa State University Press, Ames, EUA, 185 p.
- Snoeck, P.P.N., Moura, L.C.O., Silva, M.C., Machado-Neves, M., Melo, M.I.V., Heneine, L.G.D. e Henry, M., 2017. Effect of storage conditions on the LDL effectiveness in ovine sperm cryopreservation. *Cryobiology*, **75**, 88-90.
- Somanjaya, R., Fuah, A.M., Rahayu, S., Setiadi, M.A. e Abdullah, dan L., 2021. PMSG in ewes, a practical and efficient step for superovulation. *In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 748, 012010.
- Sorensen Jr., A.M., 1979. Animal reproduction. Principles and practices. McGraw-Hill Book Company, Columbus, Ohio, EUA, 496 p.
- Souza-Fabjan, J.M.G., Oliveira, M.E.F., Guimarães, M.P.P., Brandão, F.Z., Bartlewski, P.M. e Fonseca, J.F., 2023. Review: Non-surgical artificial insemination and embryo recovery as safe tools for genetic preservation in small ruminants. *Animal*, **17** (1), 100787.
- Steel, R.G.D. e Torrie, J.H., 1980. Principles and procedures of statistics. 2ª Edição, McGraw-Hill Company, Nova Iorque, EUA, 633 p.
- Steyn, J.J., 2003. Application of artificial insemination (AI) on commercial sheep and goat production. *In: Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte, 2. Simpósio Internacional sobre Agronegócio da Caprinocultura Leiteira. EMEPA-DA, João Pessoa, Brasil, 367-379.*

- Suárez, G., Zunino, P., Carol, H. e Ungerfeld, R., 2006. Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load and assessment of the susceptibility to antibiotics after treatment with intravaginal sponges in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, **63**, 39-43.
- Sutton, C.M. e Alexander, B.M., 2019. Ewes express increased proceptive behavior toward high-sexually active rams. *Applied Animal Behaviour Science*, **216**, 15-18.
- Swelum, A. A. e Alowaimer, A., 2015. The efficacy of controlled internal drug release (CIDR) in synchronizing the follicular wave in dromedary camels (*Camelus dromedarius*) during the breeding season. *Theriogenology*, **84**, 1542-1548.
- Swelum, A.A.-A., Saadeldin, I.M., Moumen, A.F., Ali, M.A., Ba-Awadh, H. e Alowaimer, A.N., 2018. Efficacy of using previously used Controlled Internal Drug Release (CIDR) insert on the reproductive performance, hormone profiles and economic measures of sheep. *Reproduction in Domestic Animals*, **53** (5), 1114-1122.
- Swelum, A.A.-A., Saadeldin, I.M., Moumen, A.F., Ali, M.A., Ba-Awadh, H. e Alowaimer, A.N., 2019. Effects of long-term Controlled Internal Drug Release reuse on reproductive performance, hormone profiles, and economic profit of sheep. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **48**, e20180085.
- synchronization on vaginal flora and subsequent fertility in ewes.
- Szymanowicz, J., Schwarz, T., Murawski, M., Małopolska, M., Oszczęda, Z., Tuz, R., Nowicki, J. e Bartlewski, P.M., 2019. Storage of boar semen at 16-18°C in the long-term commercial extender prepared with deionized water or nanowater. *Animal Reproduction*, **16**, 864-870.
- Taçyıldız, E., Kuru, B.B. e Kuru, M., 2023. The effect of short-term or long-term progesterone-based estrus synchronization on fertility parameters in Tuj ewes outside the breeding season. *Van Veterinary Journal*, **34** (3), 237-243.
- Takci, A., Kivrak, M.B. e Yüksel, M., 2023. Determination of the effect of different doses of eCG applications on reproductive parameters in primiparous Akkaraman Kangal sheep. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, **11** (6), 1128-1133.
- Thérien, I., Moreau, R. e Manjunath, P., 1998. Major proteins of bovine seminal plasma and high-density lipoprotein induce cholesterol efflux from epididymal sperm. *Biology Reproduction*, **59**, 768-776.
- Thérien, I., Moreau, R. e Manjunath, P., 1999. Bovine seminal plasma phospholipid-binding proteins stimulate phospholipid efflux from epididymal sperm. *Biology Reproduction*, **61**, 590-598.

- Toquet, M., Gomis, J., Jiménez-Trigos, E., Bataller, E., Barba, M., Sánchez, A., González-Torres, P. e Gómez-Martín, Á., 2025. Development of an innovative intravaginal model of probiotic inoculation in dairy ovine flocks: positive effects on the vaginal microbiota, vaginitis and fertility. *Animal*, **19** (2), 101417.
- Ungerfeld, R. e Rubianes, E., 1999. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile estrus with eCG in ewes during late seasonal anestrus. *Animal Science*, **68**, 349-353.
- Ungerfeld, R. e Rubianes, E., 2002. Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrus induction in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, **46** (1), 63-66.
- Ungerfeld, R. e Silva, E., 2005. The presence of normal vaginal flora is necessary for normal sexual attractiveness of estrous ewes. *Applied Animal Behaviour Science*, **93** (3-4), 245-250.
- Uribe-Velázquez, L.F., Cadavid, R.R. e Osorio, J.H., 2009. Respostas foliculares e endócrinas em ovelhas após sincronização do estro usando progesterona, prostaglandinas (PGF $2\alpha$ ) e gonadotrofinas. *Veterinária e Zootecnia*, **3** (2), 14-27.
- Valentim, R., Rodrigues, I., Correia, T.M., Sacoto, S., Azevedo, J. e Gomes, M.J.M., 2016. Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos 7. Inseminação artificial em ovinos e caprinos. *Agrotec*, **20**, 10-13.
- Valentim, R., Rodrigues, I., Montenegro, T., Sacoto, S. e Azevedo, J., 2015a. Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos. 4. Controlo da atividade reprodutiva em pequenos ruminantes - métodos naturais. *Agrotec*, **17**, 19-23.
- Valentim, R., Rodrigues, I., Montenegro, T., Sacoto, S. e Azevedo, J., 2015b. Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos. 5. Controlo da atividade reprodutiva em pequenos ruminantes - métodos hormonais. *Agrotec*, **18**, 25-28.
- Valentim, R., Rodrigues, I., Montenegro, T., Sacoto, S., Azevedo, J. e Gomes, M.J., 2016. Maneio reprodutivo em ovinos e caprinos. 6. Controlo da atividade reprodutiva em pequenos ruminantes – *flushing* alimentar. *Agrotec*, **20**, 12-15.
- Valentim, R., Santos, L., Correia, T., Mateus, O., Álvaro, A., Afonso, P., Silva, D. e Quintas, H., 2022. Controlo reprodutivo e inseminação artificial cervical em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Tratamentos hormonais curtos com FGA ou CIDR e eCG. *In: IV Congresso Nacional de Escolas Superiores Agrárias, Escola Superior Agrária de Santarém, Santarém, Portugal*, P9905, 224 p.

- Valizadeh, B., Rajabioun, M., Azizzadeh, M. e Toosi, B.K., 2022. Effects of subcutaneous progesterone injection as a short-time estrus synchronization protocol in ewes: a preliminary study. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, **14** (1), 39-44.
- Vasconcelos, C.O.D.P., Brandão, F.Z., Martins, G., Penna, B., Souza-Fabjan, J.M.G.D. e Lilenbaum, W., 2016. Qualitative and quantitative analysis of bacteria from vaginitis associated with intravaginal implants in ewes following estrus synchronization. *Ciência Rural*, **46** (4), 632-636.
- Vergani, G.B., Fonseca, J.F. da, Trevizan, J.T., Pereira, V.S.A., Garcia, A.R., Esteves, S.N., Brandão, F.Z., Souza-Fabjan, J.M.G. e Oliveira, M.E.F., 2020. Luteotropic effects of human chorionic gonadotropin administered 7.5 days after synchronous estrous induction in Morada Nova ewes. *Animal Reproduction Science*, **223**, 106644.
- Vilariño, M., Cuadro, F., dos Santos-Neto, P.C., García-Pintos, C. e Menchaca, A., 2017. Time of ovulation and pregnancy outcomes obtained with the prostaglandin-based protocol Synchrovine for FTAI in sheep. *Theriogenology*, **90** (Supplement C), 163-168.
- Vilariño, M., Rubianes, E. e Menchaca, A., 2011. Re-use of intravaginal progesterone devices associated with the short-term protocol for timed artificial insemination in goats. *Theriogenology*, **75** (7), 1195-1200.
- Vilariño, M., Rubianes, E. e Menchaca, A., 2013. Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, **79**, 206-210.
- Vilariño, M., Rubianes, E., van Lier, E., e Menchaca, A., 2010. Serum progesterone concentrations, follicular development and time of ovulation using a new progesterone releasing device (DICO). *Small Ruminant Research*, **91**, 219-224.
- Viñoles, C., Forsberg, M., Banchemo, G. e Rubianes, E., 2001. Effect of long-term and short-term progestogen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, **55**, 993-1004.
- Viñoles, C., Meikle, A., Forsberg, M. e Rubianes, E., 1999. The effect of subluteal levels of exogenous progesterone on follicular dynamics and endocrine patterns during the early luteal phase of the ewe. *Theriogenology*, **51**, 1351-1361.
- Viñoles, C., Paganoni, B., Milton, J.T.B., Driancourt, M.A. e Martin, G.B., 2011. Pregnancy rate and prolificacy after artificial insemination in ewes following synchronization with prostaglandin, sponge, or sponges with bactericide. *Animal Production Science*, **51**, 565-569.

- Walker, S.K., Weaver, A.C., Swinbourne, A.M.S., Kelly, J.M. e Kleemann, D.O., 2025. Improving the efficiency of progesterone pessary treatment for synchrony of estrus in the sheep. *Theriogenology*, **233**, 24-31.
- Waqas, M.-S. e Tibary, A., 2025. Manipulation of ovarian function in sheep and goat. *Clinical Theriogenology*, **17**, 25-35.
- Watson, P., 1981. The roles of lipid and protein in the protection of ram spermatozoa at 5°C by egg-yolk lipoprotein. *Journal of Reproduction & Fertility*, **62**, 483-492.
- Watson, P.F., 1990. Artificial insemination and the preservation of semen. *In: Marshall's Physiology of Reproduction*, G.E. Lamming (Editor), Volume 2, Churchill-Livingstone, Edimburgo, RU, 747-869.
- Weaver, A.C., Kelly, J.M., Swinbourne, A.M., Kleemann, D.O. e Walker, S.K., 2023. Strategies to improve the success of fixed-time artificial insemination in the ewe. *Reproduction in Domestic Animals*, **58** (10), 1359-1367.
- Wheaton, J.E., Carlson, K.M., Windels, H.F. e Johnston, L.J., 1993. CIDR - A new progesterone releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, **33**, 127-141.
- Windorski, E.J., Schauer, C.S., Wurst, A.K., Inskeep, E.K. e Luther, J.S., 2008. Effects of melengestrol acetate and P.G. 600 on fertility in Rambouillet ewes outside the natural breeding season. *Theriogenology*, **70**, 227-232.
- Windsor, D.P., 1995. Factors influencing the success of transcervical insemination in Merino ewes. *Theriogenology*, **43** (6), 1009-1018.
- Wusiman, A., Wang, Y., Ren, K., Zhou, G., Fu, X., Suo, L. e Zhu, S., 2012. Semen storage at 23, 4 or -196°C and its application to artificial insemination in small-tail Han sheep. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, **7** (4), 299-308.
- Yotov, S., Velislavova, D.V. e Dimova, L.R., 2016. Pregnancy rate in Bulgarian White milk goats with natural and synchronized estrus after artificial insemination by frozen semen during breeding season. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, **5** (2), 144-147.
- Yu, X.J., Wang, J. e Bai, Y.Y., 2018. Estrous synchronization in ewes: The use of progestogens and prostaglandins. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science*, **68** (4), 219-230.

- Yu, Z., Bai, Y., Yang, J., Zhao, X., Zhang, L. e Wang, J., 2022. Comparison of five protocols of estrous synchronization on reproductive performance of Hu sheep. *Frontiers in Veterinary Science*, **9**, 843514.
- Zamiri, M.J., 2020. Update on semen cryopreservation in sheep and goats: A review. *Journal of Livestock Science and Technologies*, **8** (1), 1-15.
- Zelege, M., Greyling, J.P.C., Schwalbach, L.M.J., Muller, T. e Erasmus, J.A., 2005. Effect of progestogen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. *Small Ruminant Research*, **56** (1), 47-53.
- Zhao, J., Wang, J., Yang, Y.J., Li, X.N. e Sun, C.T., 2014. In vitro assessment of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from vaginas of healthy cows. *Indian Journal of Animal Research*, **49**, 355-359.
- Zonturlu, A.K., Özyurtlu, N. e Kaçar, C., 2011. Effect of different doses PMSG on estrus synchronization and fertility in Awassi ewes synchronized with progesterone during the transition period. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **17** (1), 125-129.