

**CONTROLO REPRODUTIVO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL CERVICAL COM SÉMEN
REFRIGERADO EM OVELHAS DA RAÇA CHURRA GALEGA BRAGANÇANA- EFEITO DA
TOSQUIA E DO MOMENTO DA ADMINISTRAÇÃO DE eCG**

Ana Augusta Cardoso

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Tecnologias da Ciência Animal, no âmbito do programa de dupla diplomação estabelecido entre o Instituto Politécnico de Bragança e o Instituto Federal do Sul de Minas Gerais – Campus Machado.

Orientado por

Ramiro Corujeira Valentim

Daiane Moreira Silva

Bragança

2026

A presente dissertação corresponde à versão final, revista e corrigida após a discussão pública, integrando as alterações e recomendações aprovadas pelo Júri. O conteúdo apresentado é da exclusiva responsabilidade da Autora.

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação representa a concretização de uma etapa muito importante da minha formação académica e pessoal, a qual não teria sido possível sem o apoio, a colaboração e o incentivo de várias pessoas e instituições, às quais expresso aqui a minha profunda gratidão.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por me conceder força, serenidade e bênçãos ao longo de toda a minha caminhada académica e pessoal, mantendo-me firme perante os desafios enfrentados.

À minha família, deixo o meu mais sincero agradecimento pelo amor, apoio incondicional, compreensão e incentivo constantes, mesmo nos momentos de maior cansaço e dificuldade. Foram o meu principal alicerce emocional ao longo de todo este percurso.

Agradeço ao meu orientador, Professor Ramiro Corujeira Valentim, e à Professora Daiane Moreira Silva, pela disponibilidade, orientação científica, paciência e pelos valiosos conhecimentos transmitidos ao longo de todo o desenvolvimento deste trabalho. O seu acompanhamento foi fundamental para a minha evolução académica e para a concretização desta investigação.

Expresso também a minha gratidão a todos os professores que fizeram parte da minha formação académica, pelos ensinamentos transmitidos ao longo do curso, essenciais para a construção do meu pensamento científico e profissional.

Agradeço à parceria entre a Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança (ESA-IPB) e o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado, pela formação académica de qualidade e por proporcionarem as condições necessárias à realização deste estudo.

Um agradecimento especial à Quinta do Pinheiro Manso e à equipa do Centro Pedagógico Veterinário da ESA, pela autorização, acolhimento e apoio logístico na realização do trabalho experimental, bem como a todos os colaboradores que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a execução das atividades práticas e para o desenvolvimento deste trabalho. O apoio, a disponibilidade e a colaboração de todos foram fundamentais e merecem a minha mais sincera gratidão.

Aos amigos e colegas, agradeço pela partilha de conhecimentos, companheirismo, apoio e pelos momentos de motivação e descontração, que tornaram esta caminhada mais leve e enriquecedora.

Por fim, agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e para o meu crescimento pessoal e académico. A todos, o meu muito obrigada.

RESUMO

O desempenho reprodutivo em ovinos depende de fatores hormonais, fisiológicos e de manejo que influenciam a eficiência dos protocolos de sincronização do estro e da inseminação artificial (IA). A utilização de sêmen refrigerado na IA cervical constitui uma alternativa prática e menos invasiva quando comparada com a inseminação artificial laparoscópica, podendo a sua eficácia ser influenciada pelo momento de administração da gonadotrofina coriônica equina (eCG) e por práticas de manejo, como a tosquia.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do momento de administração da eCG e da tosquia na taxa de fertilidade após IA cervical com sêmen refrigerado em 77 ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. As fêmeas foram distribuídas em dois grupos de administração de eCG (-48 h e 0 h em relação à remoção da esponja vaginal) e em três grupos de tosquia (15 dias antes da IA, 15 dias após a IA e 30 dias após a IA). A fertilidade foi confirmada por ecografia transabdominal 42 dias após a inseminação.

Os resultados demonstraram que o momento de administração da eCG não influenciou significativamente a taxa de fertilidade, registrando-se 51,3% nas ovelhas tratadas 48 horas antes da remoção da esponja e 60,5% nas tratadas no momento da remoção ($P>0,05$). Relativamente à tosquia, observaram-se taxas de fertilidade de 66,7%, 57,7% e 48,1% nos grupos tosquiados 15 dias antes, 15 dias após e 30 dias após a IA, respetivamente. Apesar da tendência para maior fertilidade nas ovelhas tosquiadas antes da inseminação, as limitações do delineamento experimental poderão ter influenciado os resultados obtidos.

Conclui-se que, nas condições do presente estudo, o momento de administração da eCG não afetou significativamente a fertilidade após IA cervical com sêmen refrigerado, enquanto a tosquia evidenciou influência no desempenho reprodutivo, sendo necessários estudos com um delineamento experimental mais equilibrado para confirmar este efeito.

Palavras chaves: Ciclo estral; Eficiência reprodutiva; Protocolos hormonais; Biotecnologias reprodutivas; Prenhez.

ABSTRACT

Reproductive performance in sheep depends on hormonal, physiological, and management factors that directly influence the efficiency of estrus synchronization protocols and artificial insemination (AI). The use of chilled semen in cervical AI is a practical and less invasive alternative to laparoscopic artificial insemination; however, its effectiveness may be influenced by the timing of equine chorionic gonadotropin (eCG) administration and by management practices such as shearing.

The present study aimed to evaluate the effects of the timing of eCG administration and shearing on fertility rate following cervical AI with chilled semen in 77 Churra Galega Bragançana ewes. The animals were allocated into two eCG administration groups (-48 h and 0 h relative to vaginal sponge removal) and three shearing groups (15 days before AI, 15 days after AI, and 30 days after AI). Fertility was confirmed by transabdominal ultrasonography 42 days after insemination.

The results showed that the timing of eCG administration did not significantly affect fertility rate, with values of 51.3% in ewes treated 48 hours before sponge removal and 60.5% in those treated at sponge removal ($P>0.05$). Regarding shearing, fertility rates of 66.7%, 57.7%, and 48.1% were observed in ewes sheared 15 days before AI, 15 days after AI, and 30 days after AI, respectively. Although a trend towards higher fertility was observed in ewes sheared before insemination, the limitations of the experimental design may have influenced the results obtained.

In conclusion, under the conditions of the present study, the timing of eCG administration did not significantly affect fertility following cervical AI with chilled semen, whereas shearing appeared to influence reproductive performance. However, further studies using a more balanced experimental design are needed to confirm this effect.

Keywords: Estrous cycle; Reproductive efficiency; Hormonal protocols; Reproductive biotechnologies; Pregnancy.

Índice Geral

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	ii
Abstract	iii
Índice de Figuras.....	vi
Índice de Quadros	vii
Lista de Siglas e Abreviaturas	viii
I – Revisão Bibliográfica	1
1. Introdução	1
2. Raça Churra Galega Bragançana	2
2.1. Importância da tosquia em contexto de produção e regulação térmica	4
2.2. Papel da tosquia como fator de manejo e possível estressor.....	5
2.2.1 Estresse térmico: frio pós-tosquia.....	6
2.2.2. Estresse por manejo: manipulação, movimentação e ambiente.....	7
2.2.3. Possíveis consequências na função endócrina e reprodutiva	8
2.3. Técnica de sincronização do ciclo estral.....	10
2.3.1. Fundamentos fisiológicos da sincronização hormonal.....	11
2.3.2.1. Protocolo utilizado: esponjas/progestágenos	13
2.3.2.2. Administração de eCG	15
2.3.2.3. Vantagens e limitações da inseminação artificial (IA) cervical em ovinos	17
2.4. Tempo de administração do eCG e suas nuances.....	20
2.4.1. Papel do eCG na indução do estro	21
2.4.2. Influência do momento da administração na resposta hormonal.....	23
2.4.3. Sincronização do estro e taxa de fertilidade	25
2.5. Interferência do estresse na taxa de prenhez.....	26
2.5.1. Perdas embrionárias precoces associadas ao estresse	28
2.5.2. Importância do momento estressor (ênfase em manejo e tosquia pós IA)	29

2.6. Período crítico da gestação inicial em ovinos.....	29
II – Trabalho Experimental.....	32
1. Material e Métodos.....	32
1.1. Animais.....	32
1.2. Tosquia das ovelhas.....	33
1.3. Tratamento hormonal aplicado	33
1.4. Recolha do sémen	33
1.5. Análise seminais	34
1.6. Doses seminais	34
1.7. Inseminação artificial a tempo fixo	34
1.8. Posição das ovelhas durante a Inseminação Artificial.....	35
1.9. Diagnóstico Gestacional	35
1.10. Análises Estatísticas	36
2. Resultados	37
2.1. Características Seminais	38
2.2. Taxa de fertilidade após Inseminação Artificial.....	38
3. Discussão	40
3.1 Idade.....	40
3.2 Condição Corporal	41
3.3 Momento da tosquia	42
3.4 Momento da administração de eCG	43
3.5 Carneiros	44
3.6 Refluxo Cervical	45
4. Conclusões.....	47
III – Referências Bibliográficas	48

Índice de Figuras

Figura 1 – Raça churra galega bragançana	32
Figura 2 – Procedimento de tosquia das ovelhas.....	33
Figura 3 – Realização da inseminação artificial cervical nas ovelhas de acordo com o protocolo experimental	35
Figura 4 – Ultrassonografia transabdominal para diagnóstico de gestação nas ovelhas do experimento	35
Figura 5 – Ultrassonografia transabdominal para diagnóstico de gestação nas ovelhas do experimento	36

Índice de Quadros

Quadro I – Distribuição percentual das ovelhas CGB estudadas segundo três classes de idade	37
Quadro II – Condição corporal (CC) das ovelhas CGB segundo as classes de idade consideradas.	37
Quadro III – Características do sémen produzidos pelos carneiros dadores de sémen	38
Quadro IV – Taxas de fertilidade observadas segundo três classes de idade	39
Quadro V – Taxas de fertilidade observadas segundo três de condição corporal	39
Quadro VI – Taxas de fertilidade observadas segundo o momento da tosquia	39

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% – Percentagem

°C – Grau Celsius

ADN – Ácido desoxirribonucleico

c.v. – Coeficiente de variação

CC – Condição corporal

CIDR – *Controlled internal drug release*

CL – Corpo lúteo

eCG – Gonadotropina Coriônica equina

ESA – Escola Superior Agrária

EYCE – Enzima coaguladora da gema do ovo

FGA – Acetato de fluorogestona

g – Grama

IA – Inseminação artificial

IFSULDEMINAS – Instituto Federal de Ciência, Tecnologia e Educação do Sul de Minas Gerais

IPB – Instituto Politécnico de Bragança

UI – Unidade internacional

χ^2 – Qui quadrado

µg – Micrograma

I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. INTRODUÇÃO

Neste capítulo será apresentada uma revisão bibliográfica centrada nos principais tópicos relacionados com o trabalho experimental – o controlo reprodutivo em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana (CGB) mediante sincronização hormonal com progestagénios e ECG, a influência do momento da administração do ECG na indução da ovulação e os efeitos fisiológicos e reprodutivos da tosquia, enquanto prática de manejo e potencial fator de estresse no período pós-inseminação.

1. INTRODUÇÃO

A produção ovina em Portugal desempenha um papel importante na economia rural, especialmente em regiões de menor densidade populacional, como Trás-os-Montes, onde a criação de raças autóctones representa tanto um património genético quanto uma fonte de rendimento para os produtores (Associação Nacional de Criadores de Ovinos da Raça Churra Galega Bragançana, n.d.; Direção-Geral de Alimentação e Veterinária, 2021). Entre essas raças, a CGB destaca-se por suas características adaptativas, rusticidade e aptidão mista, sendo um modelo relevante para estudos de otimização reprodutiva (Associação Nacional de Criadores de Ovinos da Raça Churra Galega Bragançana, n.d.; Direção-Geral de Alimentação e Veterinária, 2021).

A reprodução eficiente é um dos pilares para a sustentabilidade e rentabilidade da criação ovina, e a sua otimização tem sido objeto de diversos estudos recentes (Paula e Valentim, 2024; Valentim et al., 2022). Técnicas de reprodução assistida, como a inseminação artificial (IA) com sêmen refrigerado, oferecem vantagens significativas, permitindo o controle reprodutivo e a introdução de material genético de alta qualidade (Valentim et al., 2022). No entanto, a eficiência desses protocolos depende de múltiplos fatores, incluindo a condição fisiológica das fêmeas, o manejo e a qualidade do sêmen utilizado (Paula e Valentim, 2024).

A tosquia, prática habitual na criação ovina, não se limita à obtenção de lã, mas exerce um papel crucial na termorregulação e no conforto animal (Shearer e Beede, 1990). Ao mesmo tempo, pode atuar como um estressor fisiológico, especialmente quando realizada próximo de períodos críticos do ciclo reprodutivo, influenciando o sistema endócrino e, potencialmente, afetando a taxa de concepção e o desenvolvimento embrionário inicial (Encarnação, 1992; Hill et al., 2012).

O estresse térmico em ovinos, que pode ser agravado pela retenção excessiva de lã em

ambientes quentes, resulta no desequilíbrio fisiológico quando as condições ambientais ultrapassam a zona de conforto térmico desses animais, provocando alterações em parâmetros como temperatura retal, frequência respiratória e estado de bem-estar animal (Pulido-Rodríguez et al., 2025; Polli et al., 2020). Estudos recentes destacam que a tosquia é um manejo fundamental na produção de ovinos para modular a termorregulação, reduzindo a carga térmica e melhorando respostas fisiológicas em situações de estresse térmico (Pulido-Rodríguez et al., 2025).

Os protocolos de sincronização do ciclo estral, frequentemente associados à administração de progestágenos e hormônios como a gonodotrofina coriônica equina (eCG), permitem programar o estro e otimizar o sucesso da IA (Valentim et al., 2022). Pesquisas anteriores, como a de (Correia et al., 2013), já demonstraram que o momento da administração do eCG tem um impacto direto na atividade reprodutiva em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Além disso, estudos mais recentes têm focado em protocolos hormonais mais curtos (Valentim et al., 2022) e na influência de fatores como a dose de prostaglandina F2 α (PGF2 α) e o tempo de conservação do sêmen refrigerado (Paula e Valentim, 2024), destacando a importância de investigar as interações entre manejo, estresse e eficiência reprodutiva.

Diante desse contexto, com a presente pesquisa, tem-se o objetivo geral avaliar o efeito da tosquia e do momento de administração do eCG sobre a taxa de concepção em ovelhas CGB submetidas à IA cervical com sêmen refrigerado. Os objetivos específicos incluem: analisar a influência da tosquia sobre o comportamento estral e a taxa de prenhez, verificar o impacto do momento da administração do eCG sobre a sincronização do estro e explorar a correlação entre estresse fisiológico e sucesso reprodutivo.

Com este estudo, busca-se, assim, fornecer subsídios para o aprimoramento de protocolos reprodutivos em ovinos, contribuindo tanto para a eficiência produtiva quanto para o bem-estar animal, especialmente em raças autóctones de importância socioeconômica e genética para Portugal.

2. RAÇA CHURRA GALEGA BRAGANÇANA

O ovino Galego Bragançano, e todos os outros englobados nas raças churras autóctones, tem relações filogenéticas com o *Ovis aries* studery e desenvolveu-se na região da Terra Fria Transmontana, onde a atividade pecuária sempre desempenhou papel central na subsistência das populações locais, fornecendo alimento, vestuário e contribuindo para a fertilização dos solos agrícolas (Direção-Geral de Alimentação e Veterinária, 2021).

Esse contexto histórico e socioeconómico favoreceu o isolamento reprodutivo da raça, ou

seja, sem fluxo de genes com outras populações, permitindo a manutenção de características genéticas próprias e bem definidas ao longo do tempo (Direção-Geral de Alimentação e Veterinária, 2021). Apesar dessa relevância, o efetivo sofreu forte redução, passando de cerca de 40.000 animais em 1967 para 5.000 em 1990, período em que foi classificado em vias de extinção (Direção-Geral de Alimentação e Veterinária, 2021).

O registo genealógico iniciado em 1991 marcou uma fase de reestruturação do sistema produtivo, caracterizada pela redução de produtores sem acesso à terra, aumento das áreas de pastoreio decorrente da diminuição do número de explorações, maior produção de forragens e crescimento progressivo do efetivo. Contudo, a intensificação do uso de coriças contribuiu para maior incidência de doenças infeto-contagiosas e redução do papel da raça na fertilização dos solos (Associação Nacional de Criadores de Ovinos da Raça Churra Galega Bragançana, n.d.; Direção-Geral de Alimentação e Veterinária, 2021).

A raça CGB apresenta um desempenho produtivo caracterizado por crescimento mais lento e carcaças de menor peso quando comparada a raças de aptidão voltada para carne especializada, refletindo seu padrão adaptado a sistemas extensivos e de baixa intensidade (Catani, 2020).

Os cordeiros desta raça exibem desenvolvimento muscular moderado e limitada deposição de gordura ao longo da maturidade, resultando em carcaças mais magras e com menor proporção de gordura subcutânea em relação a raças de maior potencial de crescimento, como demonstrado por análises comparativas de composição tecidual (Rodrigues; Cadavez; Teixeira, 2006). Esse padrão, associado à estabilidade da qualidade da carcaça e à baixa variação entre idades, torna o uso de genótipos adaptados especialmente adequado a sistemas extensivos, nos quais a rusticidade, a adaptabilidade e a eficiência produtiva são atributos centrais para o desempenho sob condições ambientais adversas (Amarilho-Silveira et al., 2025; Leite et al., 2018).

A gestão reprodutiva da raça CGB tem recebido crescente atenção devido ao seu valor zootécnico e ao impacto econômico que a eficiência reprodutiva exerce nos sistemas tradicionais de produção. Estudos demonstram que protocolos hormonais de curta duração, como os baseados em progestágenos, são eficazes no controle da atividade reprodutiva, permitindo sincronizar o estro e melhorar a organização reprodutiva dos rebanhos (Maurício et al., 2017). A utilização de melatonina exógena, embora não altere significativamente a manifestação de cio ou a prolificidade, contribui para aumentar as taxas de ovulação e fertilidade aparente, reforçando o potencial da raça para sistemas que dependem de reprodução sazonal bem definida (Maurício et al., 2017).

Esses avanços no controle reprodutivo contribuem para a valorização da raça ao

possibilitarem maior previsibilidade produtiva, melhor planejamento da estação de partos e maior uniformidade dos lotes, fatores diretamente relacionados ao aumento da eficiência reprodutiva e econômica dos sistemas de produção. A aplicação de protocolos hormonais bem definidos, associados à IA, favorece a organização do manejo reprodutivo, otimiza o uso de material genético superior e fortalece a competitividade e a sustentabilidade dos sistemas produtivos que utilizam a CGB, especialmente em regiões onde a rusticidade, a adaptação ambiental e a eficiência produtiva são atributos estratégicos para a ovinocultura (Evans; Maxwell, 1987; Abecia et al., 2012; Gibbons et al., 2019).

2.1 IMPORTÂNCIA DA TOSQUIA EM CONTEXTO DE PRODUÇÃO E REGULAÇÃO TÉRMICA

A tosquia desempenha um papel central na manutenção da qualidade da lã, sendo considerada uma das práticas produtivas mais importantes no manejo de ovinos. A remoção anual do velo é essencial para garantir fibras mais limpas, homogêneas e com menor acúmulo de sujidade, poeira e matéria vegetal, fatores que depreciam significativamente o valor comercial da lã e reduzem sua eficiência no processamento industrial (Cottle, 2010).

De forma complementar, a tosquia contribui para prevenir o “felting”, isto é, a compactação das fibras causada por um ciclo prolongado sem corte, preservando as características desejáveis de comprimento, finura e resistência (Scobie et al., 2011). Dessa forma, do ponto de vista produtivo, a tosquia é fundamental tanto para manter a qualidade do produto final quanto para assegurar que o animal exprima o potencial de crescimento saudável das fibras.

Além do impacto sobre a lã, a tosquia também está associada ao conforto térmico e ao bem-estar animal, especialmente em regiões de clima quente ou com grande amplitude térmica ao longo do ano. Tendo em vista que, animais não tosquiados apresentam maior retenção de calor e maior risco de estresse térmico durante o verão, o que leva a redução do consumo de alimento, do comportamento exploratório e do desempenho produtivo (Oliveira et al., 2015).

Em contrapartida, a tosquia facilita a dissipação do excesso de calor corporal ao reduzir o isolamento térmico proporcionado pela lã, favorecendo a troca de calor com o ambiente e melhorando a ventilação da pele em situações de calor intenso, o que pode contribuir para a termorregulação em raças ovinas com elevada capacidade de ganho de calor (Polli et al., 2020; Pulido-Rodríguez et al., 2025). Além disso, a remoção da lã reduz o acúmulo de sujeira e umidade no manto, melhora a higiene corporal e diminui a incidência de dermatites e miíases, facilitando o manejo sanitário e reprodutivo; esses benefícios estão associados à manutenção da saúde e do bem-estar dos animais, especialmente em sistemas produtivos sob condições ambientais

adversas (Pulido-Rodríguez et al., 2025; revisões sobre bem-estar animal). Portanto, a tosquia cumpre uma função produtiva e zootécnica essencial ao combinar benefícios fisiológicos e econômicos para a produção ovina em climas quentes.

A tosquia desencadeia alterações fisiológicas expressivas nos ovinos, cuja intensidade depende diretamente das condições ambientais vigentes no momento do procedimento. Há comprovações de que após a remoção do velo, ocorre um aumento imediato da temperatura da pele e da circulação periférica, resultado da exposição direta do tegumento às condições ambientais e da redução súbita da capacidade de isolamento térmico anteriormente conferida pela lã (Piccione; Caola; Refinetti, 2002). Esse processo é acompanhado por ajustes metabólicos transitórios, que incluem maior ativação dos mecanismos de dissipação de calor e aumento da sensibilidade térmica superficial, refletindo um esforço adaptativo para restaurar o equilíbrio homeotérmico do animal (Piccione et al., 2002; Mendes et al., 2013).

Nas estações quentes, a tosquia tende a favorecer a termorregulação ao reduzir a carga térmica acumulada sob o velo, permitindo maior eficiência na perda de calor por condução e convecção. Pesquisas indicam que a presença de lã espessa limita a evaporação do suor e dificulta a dissipação térmica, aumentando a susceptibilidade ao estresse por calor, logo, a tosquia atua como estratégia eficaz para mitigar os efeitos de ambientes com alta radiação e temperaturas elevadas (Titto et al., 2016).

Por outro lado, em estações frias ou períodos de baixa temperatura, a tosquia pode comprometer consideravelmente a homeotermia, aumentando as exigências metabólicas associadas à termogênese endógena. Após a remoção da lã, ovinos ficam mais susceptíveis à perda rápida de calor, o que obriga a um incremento do metabolismo basal e, em alguns casos, à redução do desempenho produtivo e reprodutivo quando não há oferta nutricional adequada (Elhadi et al., 2019).

Assim, os efeitos fisiológicos da tosquia apresentam duas vertentes, embora possa melhorar a tolerância ao calor em estações quentes, o procedimento deve ser cuidadosamente planejado em condições frias, de forma a evitar desequilíbrios térmicos e consequências negativas para o bem-estar e a produtividade dos animais (Elhadi et al., 2019; Titto et al., 2016; Silva et al., 2021).

2.2 PAPEL DA TOSQUIA COMO FATOR DE MANEJO E POSSÍVEL ESTRESSOR

A tosquia é uma prática amplamente adotada na ovinocultura como estratégia de manejo, especialmente para o controle térmico e melhoria do conforto dos animais em regimes produtivos (mais intensivos ou em regiões de clima quente). Entretanto, além da função

protetora e utilitária da tosquia, existe crescente evidência de que existe a possibilidade de atuar como um estressor para os ovinos, com consequências fisiológicas, endócrinas e potenciais implicações reprodutivas (Piccione et al., 2002; Arfuso et al., 2022).

2.2.1 ESTRESSE TÉRMICO: FRIO PÓS-TOSQUIA

Ovinos são animais endotérmicos, capazes de manter a temperatura corporal dentro de limites fisiológicos relativamente estreitos por meio do controle da produção e dissipação de calor metabólico, mesmo diante de variações na atividade física e nas condições ambientais (Sejian et al., 2018; Polsky & von Keyserlingk, 2017). O conforto térmico em ovinos é geralmente observado quando o índice de temperatura e umidade (ITU) permanece abaixo de valores críticos, frequentemente reportados como inferiores a 22, condição na qual os mecanismos termorregulatórios operam sem sobrecarga fisiológica (Marai et al., 2007; Polli et al., 2020). Quando esse limiar é ultrapassado, ocorrem alterações fisiológicas e comportamentais, como aumento da frequência respiratória e da temperatura corporal, além de prejuízos ao desempenho produtivo e ao bem-estar animal (Baumgard & Rhoads, 2013; Sejian et al., 2018).

Os principais elementos climáticos que influenciam o ambiente de produção animal incluem a temperatura e a umidade do ar, a pressão atmosférica, a radiação solar e a velocidade do vento. Entre esses fatores, a velocidade do vento exerce papel relevante no conforto térmico, uma vez que favorece a perda de calor por convecção, auxiliando os mecanismos termorregulatórios dos animais (Sejian et al., 2018; Polsky & von Keyserlingk, 2017). Quando esses elementos climáticos ocorrem em condições extremas, podem atuar de forma direta ou indireta sobre os animais de criação, deslocando-os de sua zona de conforto térmico e comprometendo a eficiência produtiva e o bem-estar (Baumgard & Rhoads, 2013; Polli et al., 2020). A magnitude da resposta biológica ao estresse ambiental, contudo, é modulada por diversos fatores individuais, como genética, idade, sexo, condição fisiológica e experiências prévias, que influenciam a capacidade adaptativa dos animais frente aos agentes estressores (Sejian et al., 2018; Collier et al., 2019).

Nesse sentido, a lã exerce importante função como barreira termo-isolante, contribuindo para a manutenção da homeotermia em diferentes condições climáticas. Após a tosquia, os ovinos ficam mais suscetíveis às variações ambientais, podendo apresentar respostas fisiológicas rápidas relacionadas à perda desse isolamento. Existem evidências que demonstram que animais tosquiados podem apresentar aumento da temperatura retal, da temperatura superficial e da frequência respiratória quando expostos ao calor, sugerindo que a remoção da lã, em determinadas condições, pode reduzir a eficiência dos mecanismos de termorregulação

(Vital et al., 2024).

O impacto da tosquia sobre o conforto térmico depende não apenas da estação, mas também de variáveis como umidade relativa, ventilação, radiação solar e acesso a abrigo. Em ambientes quentes, a tosquia pode ser benéfica ao facilitar a dissipação de calor; porém, em situações de clima frio, nublado ou ventoso, os animais tosquiados podem apresentar maior perda de calor corporal e risco de estresse térmico frio (Silva; Santos; Oliveira, 2021).

2.2.2 ESTRESSE POR MANEJO: MANIPULAÇÃO, MOVIMENTAÇÃO E AMBIENTE

Além dos desafios térmicos, a tosquia envolve uma série de procedimentos de manejo que podem ser percebidos pelos ovinos como eventos potencialmente estressantes. A manipulação intensa, a contenção física, a separação do rebanho, o deslocamento até as instalações de tosquia e a exposição a ruídos e equipamentos mecânicos podem desencadear respostas fisiológicas agudas ao estresse, como alterações endócrinas e comportamentais, especialmente quando o manejo não é conduzido de forma adequada (Dwyer, 2014; Hemsworth et al., 2015; Sejian et al., 2018). Estudos recentes destacam que a intensidade dessas respostas está diretamente relacionada à qualidade do manejo, à experiência prévia dos animais e ao nível de habilidade dos operadores, reforçando a importância de práticas de tosquia baseadas em princípios de bem-estar animal (Hemsworth et al., 2015; Dwyer, 2014).

Estudos controlados demonstram que a tosquia pode causar elevação significativa nos níveis de cortisol, principal hormônio indicativo de estresse em ruminantes. Pesquisas com ovelhas Comisana revelaram aumento acentuado de cortisol sérico nos minutos imediatamente após o procedimento, acompanhado por alterações nas proteínas séricas, como redução da albumina e aumento de globulinas, sugerindo ativação da resposta inflamatória e de fase aguda (Azzara et al., 2022).

Outros estudos com ovinos da raça Sarda também evidenciaram que o processo de tosquia resulta em modificações metabólicas significativas, incluindo aumento da glicemia, alterações eletrolíticas (sódio, potássio e magnésio) e redução das concentrações de GH, hormônio envolvido na regulação metabólica e no crescimento (Mulas et al., 2012). Tais alterações reforçam que a tosquia não é apenas um procedimento mecânico, mas um evento fisiologicamente desafiador, capaz de desencadear respostas de estresse de magnitude variada conforme o animal, o ambiente e o método adotado.

Comparações entre diferentes práticas de manejo demonstram que a tosquia figura entre os procedimentos que mais induzem alterações endócrinas e metabólicas, especialmente quando envolve contenção prolongada ou equipamentos de maior ruído (Turner; Schutz, 2012).

2.2.3 POSSÍVEIS CONSEQUÊNCIAS NA FUNÇÃO ENDÓCRINA E REPRODUTIVA

O estresse térmico pode ser definido como a pressão exercida pelos componentes do ambiente térmico sobre o organismo animal, desencadeando respostas fisiológicas cuja magnitude depende tanto da intensidade do agente estressor quanto da capacidade adaptativa do indivíduo em compensar os desvios homeostáticos induzidos (Sejian et al., 2018; Collier et al., 2019). Nessas condições, os animais ativam uma série de respostas fisiológicas e comportamentais amplamente utilizadas como indicadores do grau de conforto térmico, incluindo alterações na temperatura corporal, frequência respiratória, ingestão alimentar e perfil endócrino (Silanikove, 2000; Marai et al., 2007; Polli et al., 2020).

Quando expostos a ambientes termicamente desafiadores, os ovinos podem apresentar reduções significativas no desempenho produtivo e reprodutivo, além de comprometimento do sistema imunológico, efeitos que variam conforme a intensidade, duração e frequência do estressor térmico (Baumgard & Rhoads, 2013; Sejian et al., 2018; Collier et al., 2019). Entre as primeiras manifestações fisiológicas observadas em animais submetidos ao estresse calórico destaca-se o aumento da frequência respiratória, mecanismo fundamental para intensificar a dissipação de calor por evaporação (Starling et al., 2002; Sejian et al., 2018). Com a persistência do estresse, os mecanismos termorregulatórios tornam-se mais intensos, e o organismo passa a reduzir o metabolismo basal, incluindo a diminuição da atividade do eixo tireoidiano, como estratégia para limitar a produção endógena de calor (Baumgard & Rhoads, 2013).

Sob essa perspectiva, a fisiologia do estresse é regulada principalmente pelo eixo hipotálamo–hipófise–adrenal (HPA). Em situações de estresse térmico, sinais provenientes de neurônios termossensíveis e de centros superiores do sistema nervoso central ativam neurônios hipotalâmicos, promovendo a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH). Este, por sua vez, estimula a hipófise anterior a secretar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que induz o córtex adrenal à produção de hormônios adrenocorticais, especialmente os glicocorticoides (Sejian et al., 2018; Moberg & Mench, 2020).

Entre esses hormônios, os glicocorticoides desempenham papel central na resposta ao estresse, apresentando efeitos catabólicos, inibição da síntese proteica, redução do metabolismo basal e diminuição da ingestão alimentar, contribuindo para o redirecionamento de energia em situações adversas (Marai et al., 2007; Baumgard & Rhoads, 2013). O cortisol, principal glicocorticoide em ovinos, atua modulando a intensidade da resposta ao estresse e auxiliando no restabelecimento da homeostase (Minton, 2017; Moberg & Mench, 2020). A ativação do eixo HPA também interfere na secreção de outros hormônios, promovendo a

redução da liberação do hormônio do crescimento, gonadotrofinas e do hormônio estimulador da tireoide (TSH), o que contribui para as alterações metabólicas observadas durante o estresse térmico (Baumgard & Rhoads, 2013).

Com o aumento das concentrações de glicocorticoides circulantes, a ação do TSH sobre a tireoide é inibida, resultando na diminuição da produção dos hormônios triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), essenciais para o controle do metabolismo energético e da produção de calor corporal (Sejian et al., 2018; Collier et al., 2019). Assim como os glicocorticoides, os hormônios tireoidianos são regulados por mecanismos de feedback negativo, assegurando o equilíbrio endócrino. Paralelamente, opioides endógenos, como β -endorfina e encefalinas, participam da modulação do apetite, do comportamento e da termorregulação em situações estressantes (Minton, 2017).

Além disso, as catecolaminas adrenalina e noradrenalina, liberadas pela medula adrenal, promovem respostas imediatas ao estresse, como aumento da frequência cardíaca, redistribuição do fluxo sanguíneo e mobilização rápida de substratos energéticos (Moberg & Mench, 2020). De modo geral, a exposição a agentes estressores térmicos desencadeia uma resposta integrada de praticamente todo o sistema endócrino, permitindo ajustes fisiológicos que visam à adaptação do organismo às novas condições ambientais (Sejian et al., 2018; Collier et al., 2019).

O estresse, seja ele térmico, ambiental ou decorrente do manejo, possui efeito direto sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, podendo comprometer processos reprodutivos essenciais. O estresse em ovinos, incluindo o provocado pela tosquia, pode interferir no comportamento estral, nos padrões hormonais e na fertilidade, uma vez que aumenta a liberação de cortisol, o qual apresenta efeito inibitório sobre a secreção pulsátil de hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) e hormônio luteinizante (LH), hormônios fundamentais para o desenvolvimento folicular, ovulação e manutenção do ciclo estral (Fitzgerald; Stellflug, 2012). Assim, animais submetidos a estresse intenso ou manejo inadequado podem apresentar redução da atividade reprodutiva, atraso na ovulação ou redução da taxa de concepção.

Além disso, alterações endócrinas observadas após a tosquia, como aumento do cortisol e redução de GH, podem comprometer a homeostase energética e metabólica, fatores decisivos para o desempenho reprodutivo (Mulas et al., 2012). Animais com balanço energético negativo ou expostos a estressores frequentes tendem a apresentar menor eficiência reprodutiva, menor taxa de prenhez e possíveis irregularidades no ciclo estral.

Por fim, estresse pode ainda afetar tanto fêmeas quanto machos, interferindo na qualidade seminal, na espermatogênese e na produção de testosterona, embora a literatura sobre o impacto específico da tosquia sobre parâmetros reprodutivos de machos ainda seja

limitada (Kumar et al., 2025).

2.3 TÉCNICA DE SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL

A reprodução de pequenos ruminantes pode ser controlada por diversos métodos desenvolvidos nas últimas décadas. Alguns desses métodos envolvem a administração de hormônios exógenos que modificam a cadeia fisiológica de eventos envolvidos no ciclo sexual. Outros não utilizam hormônios, baseando-se apenas em métodos naturais, como o controle do fotoperíodo ou a exposição das fêmeas aos machos. A administração de hormônios, como a progesterona (P4) ou seus análogos (progestágenos) e as prostaglandinas, promove modificações na fase lútea do ciclo, enquanto a melatonina atua por meio de alterações na percepção do fotoperíodo e no padrão anual de reprodução (Abecia et al., 2012).

O uso de progestágenos para a indução e sincronização do estro foi determinante para a ampliação da aplicação da inseminação artificial (IA) em ovinos e caprinos, especialmente em razão das dificuldades inerentes à detecção do estro nessas espécies. Atualmente, esses protocolos representam uma ferramenta estratégica para sistemas produtivos, pois permitem maior controle reprodutivo e melhor organização das atividades zootécnicas (Menchaca & Rubianes, 2017; Abecia et al., 2020). Em nível comercial, a sincronização do estro possibilita a concentração e redução do período de parições, favorecendo a sincronização do desmame de animais destinados ao abate, além de otimizar o uso da mão de obra e das instalações (Abecia et al., 2012; Abecia et al., 2020). Ademais, programas de múltipla ovulação e transferência de embriões (MOET) tornam-se mais eficientes quando associados à sincronização do estro e à IA, ampliando o potencial genético dos rebanhos (Menchaca & Rubianes, 2017).

A sincronização do estro constitui, portanto, um instrumento fundamental para a concentração das parições e a redução do número de dias de serviço de IA, refletindo diretamente na eficiência reprodutiva do sistema. Embora o desenvolvimento inicial dessas técnicas tenha ocorrido a partir da introdução dos progestágenos, os protocolos atuais com progesterona (P4) evoluíram significativamente, apresentando maior previsibilidade, segurança e aplicabilidade em diferentes condições de manejo (Abecia et al., 2012; Menchaca & Rubianes, 2017). Dessa forma, a indução e sincronização do estro por meio do uso de progestágenos permanecem como um dos principais avanços no controle reprodutivo de ovinos.

A aplicação de tratamentos hormonais para indução ou sincronização da ciclicidade ovariana apresenta vantagens relevantes, sobretudo em fêmeas submetidas ao anestro sazonal. Esses protocolos permitem o restabelecimento da atividade reprodutiva fora da estação de monta, viabilizam o planejamento dos períodos de acasalamento e parição e favorecem a

adequação das condições climáticas e nutricionais para as matrizes e suas crias, refletindo positivamente na sobrevivência neonatal e no desempenho produtivo do rebanho (Abecia et al., 2012; Abecia et al., 2020).

2.3.1 FUNDAMENTOS FISIOLÓGICOS DA SINCRONIZAÇÃO HORMONAL

O controle do ciclo estral constitui a base das biotecnologias reprodutivas aplicadas a pequenos ruminantes, sendo fundamental para o sucesso de técnicas como inseminação artificial em tempo fixo (IATF), superovulação, transferência de embriões e indução de lactação. O principal objetivo desses protocolos é sincronizar ou induzir o estro e a ovulação em grupos de fêmeas, possibilitando o manejo reprodutivo programado e a formação de lotes homogêneos de animais prenhes (Fonseca et al., 2017).

Quando utilizados de forma racional e fundamentados em sólidos princípios fisiológicos, os protocolos hormonais podem otimizar os resultados reprodutivos, ao mesmo tempo em que minimizam impactos negativos sobre o bem-estar animal, a saúde pública e a sustentabilidade dos sistemas produtivos (Netto et al., 2020).

Desse modo, o controle da atividade reprodutiva traz importantes vantagens para os sistemas de produção animal, pois permite um manejo mais eficiente dos rebanhos, reduz os períodos improdutivos e, quando associado à inseminação artificial, contribui para o aumento do progresso genético (Valentim, 2015).

Em ovinos, o controle da atividade reprodutiva pode ser realizado por meio da sincronização ou da indução da atividade ovariana. De modo geral, a sincronização refere-se à concentração de um maior número de fêmeas em estro dentro de um intervalo de tempo restrito, geralmente entre 24 e 72 horas, durante a estação reprodutiva. Entretanto, fora da estação reprodutiva, quando as fêmeas se encontram em anestro sazonal, torna-se necessária a indução do estro para viabilizar a reprodução (Fonseca, 2005).

Do ponto de vista fisiológico, o ciclo estral de ovelhas e cabras é composto pelas fases lútea e folicular, apresentando duração média entre 17 e 21 dias. A fase folicular inicia-se com a luteólise e culmina na ovulação, processo caracterizado pelo crescimento e seleção de folículos dominantes sob o estímulo das gonadotrofinas hormônio folículo-estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) (Ginther et al., 2001; Abecia et al., 2012). O desenvolvimento folicular ocorre em ondas sucessivas, e o momento de emergência da onda folicular dominante exerce influência direta sobre a eficiência dos protocolos de sincronização do estro, tornando essencial a compreensão dessa dinâmica para a definição do momento ideal de aplicação dos hormônios (Menchaca & Rubianes, 2017; Abecia et al., 2020).

A sincronização do estro promove alterações significativas na dinâmica folicular de ruminantes, interferindo nos padrões de crescimento, dominância e atresia folicular (González-Bulnes et al., 2011; Menchaca & Rubianes, 2017). Entre os fatores que influenciam a resposta ao tratamento, destaca-se o estágio de desenvolvimento folicular no momento da implementação do protocolo, incluindo a presença predominante de folículos pequenos ou a persistência de um folículo dominante funcional. Essas modificações no ambiente ovariano podem impactar a qualidade oocitária, interferir no transporte de gametas e comprometer a adequada preparação uterina necessária para sustentar as fases iniciais do desenvolvimento embrionário (Lonergan & Fair, 2016; Abecia et al., 2020).

A progesterona (P4), tanto em sua forma natural quanto sintética, pode ser utilizada com sucesso na indução e sincronização do estro em pequenos ruminantes. Seu papel na endocrinologia reprodutiva está relacionado principalmente ao controle da secreção pulsátil de LH, promovendo a supressão do estro durante a estação reprodutiva ou a sensibilização do eixo hipotálamo–hipófise–gonadal durante o anestro sazonal (Menchaca & Rubianes, 2017; Abecia et al., 2012). A manutenção do corpo lúteo e/ou a manipulação das concentrações circulantes de progesterona permitem a regulação do estro e da ovulação, constituindo a base fisiológica dos protocolos modernos de controle reprodutivo em ovinos e caprinos (Abecia et al., 2020).

Um dos fatores mais influentes na eficiência dos protocolos hormonais é a condição corporal (body condition score – BCS) das fêmeas. Recomenda-se que pelo menos 80% das fêmeas apresentem BCS entre 2,75 e 3,5, em uma escala de 1 a 5, faixa considerada ideal para adequada responsividade hormonal (Fonseca; Alvim, 2018). Animais fora desse intervalo apresentam maior probabilidade de falhas reprodutivas, como anestro, ovulação silenciosa ou persistência folicular, comprometendo o desempenho reprodutivo (Fonseca, 2025). Além disso, a presença de doenças uterinas, distúrbios metabólicos e o manejo nutricional inadequado constituem fatores limitantes que devem ser corrigidos previamente à implementação de protocolos hormonais de sincronização (Netto et al., 2020).

As vantagens da utilização de protocolos de sincronização do estro nos sistemas de produção ovina incluem a concentração dos manejos reprodutivos, do momento do estro e da ovulação, possibilitando maior difusão de genética de interesse e melhor organização do calendário produtivo. Esses protocolos também permitem o incremento da taxa de ovulações múltiplas e viabilizam a implementação de sistemas produtivos com mais de um ciclo reprodutivo anual, aumentando a eficiência global do rebanho (Abecia et al., 2012; Menchaca & Rubianes, 2017). Outro reflexo relevante da sincronização é a possibilidade de adequação estratégica do manejo nutricional e sanitário no período do parto, fase crítica para a produtividade e a sobrevivência neonatal. Além disso, a sincronização do estro viabiliza a

aplicação de biotécnicas reprodutivas avançadas, como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), a superovulação e a transferência de embriões em tempo fixo (TETF), as quais maximizam a performance reprodutiva das fêmeas e agregam valor genético aos rebanhos ovinos (Abecia et al., 2020; Menchaca & Rubianes, 2017).

2.3.2.1 PROTOCOLO UTILIZADO: ESPONJAS/PROGESTÁGENOS

Em um programa de manejo reprodutivo ovino, as vantagens do uso de IA dependem do controle de estro e da ovulação. Os métodos mais recorrentes para a sincronização de estro e estimulação do crescimento folicular em ovelhas envolvem o uso de P4 e/ou progestágenos, e a administração intramuscular de eCG (gonadotrofina coriônica equina).

A progesterona (P4), em suas formas natural e sintética, constitui uma das principais ferramentas hormonais empregadas no controle da atividade reprodutiva de pequenos ruminantes, sendo amplamente utilizada em protocolos de indução e sincronização do estro. A administração de P4 exógena permite modular o eixo hipotálamo–hipófise–gônadas, possibilitando o controle da ovulação tanto durante a estação reprodutiva quanto no período de anestro sazonal (Hafez 2004; Driancourt, 2012).

Entre as diferentes vias de administração descritas na literatura, os dispositivos intravaginais de progesterona destacam-se pela elevada aplicabilidade prática nos sistemas de produção ovina, principalmente em razão da facilidade de manejo, da boa aceitação pelos animais e da alta previsibilidade das respostas fisiológicas. A liberação contínua de progesterona (P4) a partir desses dispositivos mantém concentrações plasmáticas adequadas para inibir a secreção pulsátil do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e, conseqüentemente, do hormônio luteinizante (LH), promovendo um estado endócrino semelhante ao da fase lútea do ciclo estral (Abecia et al., 2012; Menchaca & Rubianes, 2017; Abecia et al., 2020). Esse mecanismo constitui a base fisiológica dos protocolos modernos de sincronização do estro em pequenos ruminantes, assegurando maior controle do momento da ovulação e maior eficiência reprodutiva.

As esponjas vaginais impregnadas com acetato de fluorogestona (FGA) ou acetato de medroxiprogesterona (MAP), bem como os dispositivos de liberação controlada de progesterona natural (CIDR), são os métodos mais utilizados em ovinos. Esses progestágenos apresentam eficácia semelhante quanto aos índices de sincronização, taxa de parição e prolificidade, independentemente da condição fisiológica das fêmeas ou da época do ano (Valentim et al. 2006; Abecia et al. 2011).

A sincronização do estro por meio de dispositivos intravaginais de progesterona é

considerada um procedimento tecnicamente simples; entretanto, exige planejamento prévio, especialmente quando associada à inseminação artificial. Em protocolos com IA, recomenda-se a inserção dos dispositivos com antecedência suficiente para garantir adequada supressão da atividade luteinizante e sincronização da ovulação, geralmente entre 9 e 14 dias antes do momento programado para a inseminação, conforme o protocolo adotado (Menchaca & Rubianes, 2017; Abecia et al., 2020).

Os dispositivos do tipo CIDR® constituem uma alternativa amplamente consolidada às esponjas vaginais tradicionais. Esses dispositivos são impregnados com progesterona natural, a qual é liberada de forma gradual, absorvida pela mucosa vaginal e distribuída sistemicamente. Embora contenham aproximadamente 0,3 g de progesterona, apenas frações dessa dose são necessárias para manter concentrações plasmáticas eficazes na inibição da secreção de gonadotrofinas hipofisárias, especialmente do LH, assegurando controle eficiente do ciclo estral (Abecia et al., 2012; Menchaca & Rubianes, 2017).

Além disso, o uso do CIDR® tem sido associado à menor produção de muco vaginal no momento da remoção, à redução das taxas de perda dos dispositivos no rebanho e à maior uniformidade na manifestação do estro, características particularmente relevantes em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), nos quais a precisão do momento da ovulação é determinante para o sucesso reprodutivo (Abecia et al., 2020; Menchaca & Rubianes, 2017).

A manutenção do corpo lúteo e a manipulação das concentrações circulantes de progesterona permitem a regulação do estro e da ovulação; contudo, os mecanismos pelos quais a progesterona exógena interfere na dinâmica folicular ainda não são completamente elucidados. Evidências indicam que a administração de progesterona no início ou no final do ciclo estral promove a inibição do folículo dominante, reduzindo seu crescimento e sua dominância funcional, sem afetar de forma significativa os folículos de menor diâmetro (Ginther et al., 2001; González-Bulnes et al., 2011).

Adicionalmente, a dose de progestágeno utilizada nos protocolos de sincronização apresenta relação direta com o desempenho reprodutivo das fêmeas, uma vez que diferentes concentrações hormonais podem influenciar o tamanho, a maturidade e a competência dos folículos ovulatórios, refletindo-se nas taxas de ovulação e fertilidade (Abecia et al., 2012; Menchaca & Rubianes, 2017). Concentrações suprabasais de progesterona têm sido associadas ao prolongamento da fase de crescimento folicular e a alterações no ambiente intrafolicular, o que pode comprometer o desenvolvimento oocitário e provocar modificações no ambiente ovidutal e uterino. Essas alterações podem resultar em assincronia entre o desenvolvimento embrionário inicial e o trato reprodutivo materno, reduzindo a eficiência reprodutiva (Lonergan

& Fair, 2016; Abecia et al., 2020).

Quando a progesterona exógena ou seus análogos são administrados por períodos entre 12 e 14 dias, ocorre regressão funcional do corpo lúteo, no entanto, a manifestação do estro e a ovulação somente se estabelecem após a retirada do dispositivo intravaginal, em função da rápida metabolização e eliminação desses hormônios (Azevedo et al., 2006; Abecia et al., 2012).

A associação de dispositivos intravaginais de progesterona à administração de prostaglandina F₂ α (PGF₂ α) ou de seus análogos tem sido amplamente empregada com o objetivo de aumentar a eficiência da sincronização do estro em ovinos. Estudos mais recentes demonstram que fêmeas tratadas com dispositivos do tipo CIDR[®] apresentam manifestação de estro mais precoce, maiores taxas de prenhez e maior prolificidade, quando comparadas àquelas submetidas exclusivamente a protocolos baseados em prostaglandinas, evidenciando a superioridade da associação entre progesterona e PGF₂ α no controle reprodutivo (Menchaca & Rubianes, 2017; Abecia et al., 2020).

De modo geral, a exposição contínua à progesterona exógena promove uma sucessão mais regular de ondas foliculares, quando comparada ao ciclo estral natural. Contudo, essa exposição está associada à redução do diâmetro dos folículos dominantes, o que reforça a necessidade de ajustes criteriosos quanto à duração do tratamento e à dosagem dos progestágenos, a fim de evitar prejuízos à competência folicular e à eficiência reprodutiva (González-Bulnes et al., 2011; Menchaca & Rubianes, 2017; Abecia et al., 2020).

2.3.2.2 ADMINISTRAÇÃO DE ECG

Com o objetivo de aprimorar a sincronização do momento da ovulação e aumentar a eficiência reprodutiva, a gonadotrofina coriônica equina (eCG) é frequentemente associada a protocolos de sincronização baseados em progesterona (P4) ou prostaglandina F₂ α (PGF₂ α). A eCG atua por meio da ligação aos receptores de FSH e LH, estimulando o crescimento folicular, elevando a produção de estradiol pelos folículos dominantes e, conseqüentemente, aumentando as concentrações de progesterona após a luteinização, o que favorece a manutenção da fase lútea subsequente (Hashim et al., 2013; DIAS et al., 2017).

Nesse contexto, a associação do eCG aos protocolos de sincronização é amplamente empregada, uma vez que esse hormônio apresenta atividade biológica semelhante às gonadotrofinas folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH), estimulando o recrutamento e o crescimento folicular, o aumento da produção de estradiol e a subsequente ovulação (Evans; Robinson, 1980; Drancourt; Frick, 1992; Abecia et al., 2012). A administração de eCG contribui para o incremento da taxa ovulatória e para a melhoria da sincronização do estro, resultando,

em muitos casos, no aumento da prolificidade e do número de cordeiros nascidos por fêmea (Azevedo et al., 2006; Valentim et al., 2015).

Além disso, a utilização da eCG favorece uma resposta ovariana mais uniforme após a retirada de dispositivos intravaginais impregnados com progesterona ou progestágenos, reduzindo a variabilidade no intervalo entre o término do tratamento hormonal e a ovulação. Essa característica é particularmente relevante em protocolos de IATF, nos quais a precisão do momento ovulatório é determinante para o sucesso da fertilização. Dessa forma, a utilização racional da eCG, associada a protocolos hormonais adequadamente estabelecidos, contribui para o aumento das taxas de fertilidade e para a melhoria da eficiência reprodutiva em ovinos, tanto durante a estação reprodutiva quanto em períodos de anestro (HASHIM et al., 2013; ABECIA et al., 2012; DIAS et al., 2017).

Na maioria dos protocolos empregados em ovinos, a administração da eCG ocorre no momento da retirada do dispositivo intravaginal contendo progesterona ou progestágeno sintético, estratégia que tem sido associada a concentrações mais elevadas de progesterona na fase lútea pós-ovulatória, quando comparada à aplicação realizada antes da remoção do dispositivo. Essa prática contribui para maior uniformidade na manifestação do estro e na ocorrência da ovulação, aspecto particularmente relevante para programas de inseminação artificial em tempo fixo (Hashim et al., 2013).

Apesar de sua ampla utilização e comprovada eficácia nos protocolos de indução e sincronização do estro, a gonadotrofina coriônica equina (eCG) apresenta limitações relevantes. Por se tratar de uma glicoproteína complexa de origem heteróloga, sua administração repetida pode induzir resposta imunológica em ovinos, com a formação de anticorpos anti-eCG, o que pode reduzir a resposta ovariana e comprometer a fertilidade em tratamentos subsequentes. Esse efeito é particularmente observado em programas que utilizam aplicações frequentes ou em curto intervalo entre protocolos (Souza-Fabjan et al., 2017; Abecia et al., 2020). Em razão dessas limitações, estudos recentes têm enfatizado a avaliação de alternativas hormonais ou ajustes nos protocolos tradicionais, visando minimizar os efeitos adversos associados ao uso recorrente da eCG e preservar a eficiência reprodutiva dos rebanhos (Menchaca & Rubianes, 2017; Abecia et al., 2020).

Nesse contexto, a gonadotrofina coriônica humana (hCG) tem sido estudada como indutora da ovulação em protocolos de sincronização. A administração de 500 UI de hCG no momento da inseminação artificial cervical, realizada 56 horas após a remoção do dispositivo intravaginal e aplicação prévia de eCG, observando melhora nas taxas de prenhez apenas em rebanhos com histórico de baixa fertilidade. Esse efeito positivo pode estar relacionado ao aumento das concentrações de progesterona durante a fase lútea subsequente ao tratamento

(Gómez-Brunet et al., 2007).

Além disso, a associação entre eCG e hCG tem sido avaliada como alternativa ao uso exclusivo da eCG, especialmente em fêmeas núlparas ou em anestro estacional. Protocolos combinando 400 UI de eCG e 200 UI de hCG, originalmente desenvolvidos para suínos, demonstraram aumento nas taxas de manifestação de estro e prenhez em ovelhas em anestro quando comparados a protocolos baseados apenas em progestágenos (D'souza et al., 2014; Knights et al., 2015). No entanto, quando comparados a protocolos com doses ajustadas de eCG para animais em anestro, esses esquemas combinados resultaram em maior dispersão na manifestação do estro, o que limita sua aplicação em programas de inseminação artificial em tempo fixo (Cline et al., 2001).

Protocolos associados ao hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) também têm sido investigados em ovinos, embora sua utilização ainda seja menos frequente e os resultados apresentem maior variabilidade. O momento ideal para a administração do GnRH após a retirada da progesterona não está completamente estabelecido; contudo, sabe-se que aplicações mais tardias aumentam a probabilidade de presença de um folículo dominante responsivo ao pico de LH induzido (Dias et al., 2017). Não foram observados benefícios na fertilidade de ovelhas sincronizadas com duas aplicações de PGF2 α associadas ou não ao GnRH administrado 24 ou 36 horas após a segunda dose (Olivera et al., 2013).

Resultados semelhantes foram descritos, em que houve redução na manifestação de estro e prejuízo nas taxas de concepção após monta natural em protocolos baseados em GnRH–PGF2 α –GnRH, quando comparados a esquemas utilizando progesterona associada à eCG ou duas aplicações de PGF2 α (Ali et al., 2009). Por outro lado, ao ser avaliado o protocolo Ovsynch (GnRH no dia 0, PGF2 α no dia 7 e GnRH no dia 9), foi observado menor duração e intensidade do estro, porém maior taxa e sincronia de ovulação em comparação a protocolos baseados exclusivamente em prostaglandina, evidenciando que o GnRH pode ser útil em situações específicas, embora com limitações práticas (Hashem et al., 2013).

De forma geral, os resultados disponíveis indicam que a eCG permanece como a principal gonadotrofina utilizada em protocolos de sincronização e indução do estro em ovinos, especialmente quando associada a dispositivos intravaginais contendo progesterona. Alternativas como hCG e GnRH podem apresentar efeitos pontuais favoráveis, porém sua aplicação ainda requer ajustes técnicos e criteriosa avaliação das condições reprodutivas, do histórico do rebanho e dos objetivos do programa reprodutivo (Dias et al., 2017).

2.3.2.3 VANTAGENS E LIMITAÇÕES DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL CERVICAL EM OVINOS

A inseminação artificial (IA) é reconhecida como uma das principais biotecnologias reprodutivas aplicadas aos sistemas de produção de ruminantes, desempenhando papel central no melhoramento genético, na padronização da progênie e na otimização dos índices produtivos e reprodutivos dos rebanhos. Essa técnica possibilita o uso intensivo de sêmen proveniente de reprodutores geneticamente superiores, contribui para o controle sanitário ao reduzir a disseminação de doenças de transmissão sexual e permite a utilização de material genético de machos mortos, idosos ou com limitações físicas para a monta natural (Hafez, 2004).

Quando associada a protocolos hormonais de indução e sincronização do estro e da ovulação, a IA possibilita a realização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), reduzindo a necessidade de detecção de estro, padronizando o manejo reprodutivo e aumentando a eficiência operacional dos sistemas produtivos (Abecia et al., 2012; Dias et al., 2017). Em diversos países, a IA encontra-se amplamente consolidada na ovinocultura, com expressiva adoção em programas de melhoramento genético na Austrália, França, Espanha e Canadá. Na América do Sul, embora sua utilização ainda seja restrita em sistemas comerciais extensivos, avanços importantes têm sido observados no Brasil, Argentina e Uruguai (Sepúlveda Becker, 2012; Hernández Ballesteros Et Al., 2015).

Na espécie ovina, diferentes técnicas de IA podem ser empregadas, sendo classificadas principalmente de acordo com o local de deposição do sêmen no trato reprodutivo feminino. A deposição vaginal (pericervical), cervical (intracervical) ou intrauterina pode resultar em taxas de prenhez satisfatórias quando se utiliza sêmen fresco. Entretanto, na utilização de sêmen congelado e descongelado, observa-se acentuada redução na eficiência reprodutiva das técnicas que não permitem a deposição intrauterina do sêmen, tornando a inseminação intrauterina laparoscópica ou transcervical profunda as alternativas mais eficazes (Taqueda Et Al., 2011).

Nesse cenário, a inseminação artificial cervical superficial (IAC ou CS) destaca-se como a técnica mais amplamente utilizada na ovinocultura comercial, principalmente em razão de sua simplicidade, baixo custo operacional e facilidade de execução em condições de campo. Essa técnica consiste na deposição do sêmen no ponto mais profundo possível do colo uterino, geralmente junto ao óstio cervical externo ou à primeira prega cervical, sem a utilização de força para transpor o canal cervical (Gibbons Et Al., 2019).

Entre as principais vantagens da inseminação artificial cervical em ovinos estão o reduzido custo quando comparada às técnicas intrauterinas, a dispensa de procedimentos cirúrgicos e anestésicos, a menor exigência de equipamentos especializados e a possibilidade de ampla disseminação em rebanhos comerciais. Além disso, a IA cervical permite a utilização eficiente de

sêmen fresco e refrigerado, apresentando resultados reprodutivos considerados aceitáveis quando associada a adequado manejo nutricional, bom escore de condição corporal das fêmeas, qualidade seminal satisfatória e protocolos hormonais corretamente aplicados (Olivera, 2005).

Apesar das vantagens operacionais, a inseminação artificial cervical em ovinos apresenta limitações relevantes, principalmente em função das particularidades anatômicas do colo uterino dessa espécie. A cérvix ovina é um órgão fibromuscular relativamente longo, rígido e altamente tortuoso, caracterizado pela presença de quatro a oito pregas cervicais excêntricas, dispostas de forma irregular e orientadas caudalmente em direção ao lúmen cervical. Essas pregas atuam como barreiras físicas à progressão da pipeta de inseminação, dificultando ou mesmo impedindo o acesso ao útero, inclusive durante a fase estrogênica do ciclo estral, quando ocorre maior relaxamento cervical (Kaabi et al., 2006; Anel et al., 2005; Candappa et al., 2015).

A anatomia cervical macroscópica tem sido amplamente investigada como um dos fatores associados às variações nas taxas de prenhez observadas entre diferentes raças ovinas. Estudos mais recentes demonstram que existem diferenças raciais significativas no comprimento da cérvix, no número, na disposição e na conformação das pregas cervicais, as quais podem influenciar a facilidade de transposição cervical e, conseqüentemente, o sucesso da inseminação artificial (Kaabi et al., 2006; Anel et al., 2005). Entretanto, apesar dessas variações anatômicas bem documentadas, a literatura indica que nem sempre é possível estabelecer uma correlação direta e consistente entre as características cervicais macroscópicas e a fertilidade, uma vez que fatores hormonais, fisiológicos e de manejo também exercem papel determinante no desempenho reprodutivo das fêmeas (Candappa et al., 2015; Paulenz et al., 2010).

Pesquisas posteriores indicaram correlação negativa entre o número de pregas cervicais e as taxas de prenhez em determinadas raças, sugerindo que o aumento da complexidade cervical reduz a eficiência da progressão espermática pelo canal cervical (Álvarez, 2015). No entanto, outros estudos demonstraram que diferenças anatômicas e nas propriedades gerais do muco cervical nem sempre se associam diretamente às variações de fertilidade entre raças, indicando a influência concomitante de fatores fisiológicos, bioquímicos e de manejo (Abril-Parreño et al., 2021).

As limitações da IA cervical tornam-se ainda mais evidentes quando se utiliza sêmen congelado e descongelado. Nessa condição, os espermatozoides apresentam menor longevidade e maior susceptibilidade a danos estruturais e funcionais decorrentes do estresse oxidativo e dos choques térmicos associados aos processos de resfriamento e congelamento, o que compromete sua capacidade de atravessar o ambiente cervical e alcançar o local de fertilização (Salamon, 2000). Conseqüentemente, o uso de sêmen congelado por via cervical está associado a menores taxas de prenhez quando comparado às técnicas de deposição

intrauterina. (Salamon; Maxwell, 2000; Gibbons et al.,).

Diversos estudos demonstram que as taxas de prenhez e de parição aumentam à medida que se eleva a profundidade de deposição do sêmen no colo uterino, em razão da maior proximidade do local de fertilização e da redução das perdas espermáticas por refluxo vaginal. A profundidade de penetração da pipeta de inseminação é influenciada por fatores como raça, idade, paridade e estágio do ciclo estral, sendo essa variabilidade particularmente pronunciada em ovelhas, o que contribui para a inconsistência dos resultados reprodutivos obtidos com a técnica cervical (Paulenz et al., 2005; Kaabi et al., 2006; Candappa et al., 2015).

Diante dessas limitações, diferentes estratégias têm sido propostas para aumentar a eficiência da inseminação artificial cervical em ovinos, incluindo o desenvolvimento de dispositivos específicos para deposição cervical profunda do sêmen, a utilização de tratamentos hormonais visando ao relaxamento cervical e a adoção da inseminação artificial dupla. Essa última baseia-se na deposição de duas doses de sêmen em curto intervalo de tempo, com o objetivo de ampliar a disponibilidade de espermatozoides viáveis próximos ao momento da ovulação, especialmente em situações de ovulação assíncrona ou maior variabilidade na dinâmica folicular (Anel et al., 2006; Donovan et al., 2004).

Assim, embora a inseminação artificial cervical represente uma técnica acessível, de baixo custo operacional e com elevado potencial de aplicação na ovinocultura, sua eficiência reprodutiva permanece fortemente condicionada a fatores anatômicos, fisiológicos, genéticos e de manejo. Nesse contexto, o avanço no desenvolvimento de protocolos hormonais, dispositivos de inseminação e estratégias adaptadas às particularidades da espécie ovina é essencial para ampliar a aplicabilidade e a eficiência dessa biotecnologia em sistemas produtivos comerciais (Paulenz et al., 2010; Anel et al., 2014).

2.4 TEMPO DE ADMINISTRAÇÃO DO ECG E SUAS NUANCES

A sincronização do estro e da ovulação para a realização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em ovelhas baseia-se predominantemente na utilização de dispositivos intravaginais contendo progesterona natural ou progestágenos sintéticos, os quais mimetizam a fase lútea do ciclo estral e permitem o controle preciso da dinâmica ovariana. Entre os dispositivos mais utilizados destacam-se os implantes de liberação controlada de progesterona (CIDR), formulados com progesterona natural, bem como as esponjas intravaginais impregnadas com acetato de fluorogestona (FGA) ou acetato de medroxiprogesterona (MAP), amplamente empregadas em programas comerciais de reprodução assistida (Menchaca; Rubianes, 2004; Abecia et al., 2012; Souza et al., 2015).

A remoção desses dispositivos promove uma queda abrupta das concentrações circulantes de progesterona, permitindo o restabelecimento da secreção pulsátil de GnRH e LH e, conseqüentemente, o reinício da atividade ovariana. Nesse momento, é prática comum a administração de uma injeção intramuscular de gonadotrofina coriônica equina (eCG), com a finalidade de estimular o crescimento folicular final, induzir a ovulação e aumentar a sincronização do estro e da ovulação entre as fêmeas do mesmo lote. Esse manejo é particularmente relevante em situações de anestro sazonal ou período de transição reprodutiva, nas quais a atividade ovariana é reduzida ou irregular (Chemineau et al., 1991; Fonseca; Bruschi, 2008; Abecia et al., 2014; Menchaca et al., 2017).

A administração de uma dose adequada de eCG no momento da retirada da esponja estimula o crescimento folicular, aumenta a taxa de ovulação e induz uma sincronização ovulatória mais precisa tanto em ovelhas em anestro quanto em ciclo estral (Dogan et al., 2005). Além disso, a aplicação de uma dose adequada de eCG como tratamento concomitante durante a sincronização do estro em ovelhas aumenta a resposta ao estro, a taxa de concepção, a taxa de gêmeos e a taxa de partos (Boscos et al., 2002). Por outro lado, o uso de altas doses de eCG induz gestações múltiplas e aumenta a mortalidade fetal ou de cordeiros (Ataman et al., 2006). Portanto, para evitar perdas indesejáveis e ninhadas grandes, o nível de dosagem dessa gonadotrofina deve ser ajustado de acordo com a raça, a estação do ano e o estado fisiológico das ovelhas (Simonetti et al., 2002 e Nosrati et al., 2011).

2.4.1 PAPEL DO ECG NA INDUÇÃO DO ESTRO

A gonadotrofina coriônica equina (eCG), também denominada PMSG, desempenha papel central nos protocolos hormonais de indução e sincronização do estro e da ovulação em ovinos, especialmente em programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Sua ampla utilização está relacionada às particularidades fisiológicas dessa gonadotrofina, destacando-se a atividade gonadotrófica dual, com efeitos semelhantes aos hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH), associada à sua longa meia-vida biológica, que resulta em estímulo ovariano prolongado após a administração (Evans; Maxwell, 1987; Menchaca; Rubianes, 2004; Abecia et al., 2012).

A eCG atua tanto modulando o eixo hipotálamo–hipófise–ovariano quanto interferindo diretamente nos mecanismos regulatórios intraovarianos. Sua ação sustentada favorece o recrutamento, o crescimento e a maturação de folículos antrais, além de promover maior sincronização da ovulação entre as fêmeas tratadas. Esses efeitos resultam em melhora da manifestação do estro, aumento da taxa de ovulação e, em muitos casos, incremento das taxas

de prenhez, especialmente em condições de anestro sazonal ou transição reprodutiva (Menchaca; Rubianes, 2004; Bartlewski et al., 2011; Abecia et al., 2012).

Na prática, a eCG é tradicionalmente utilizada em associação com dispositivos intravaginais liberadores de progesterona ou progestágenos, como esponjas vaginais. A administração ocorre, geralmente, por via intramuscular no momento da retirada do dispositivo, em doses que variam de 100 a 600 UI, com o objetivo de estimular o crescimento folicular, sincronizar a ovulação e aumentar a eficiência reprodutiva dos programas de inseminação artificial (Dias et al., 2001; Abecia et al., 2012).

Após a remoção do dispositivo intravaginal, a queda abrupta da progesterona circulante, associada à aplicação da eCG, promove a emergência de uma onda folicular mais homogênea, acelerando a maturação dos folículos dominantes e favorecendo a ocorrência da ovulação dentro de um intervalo previsível. Essa resposta fisiológica é fundamental para o sucesso dos protocolos de IATF, nos quais o momento da inseminação é previamente determinado (Evans; Maxwell, 1987; Abecia et al., 2012).

Além de sua ação sistêmica, a eCG exerce efeitos diretos sobre o ovário, modulando processos intraovarianos como a esteroidogênese, a expressão de receptores para gonadotrofinas e a competência ovulatória dos folículos dominantes. Esses efeitos contribuem para o aumento da taxa de ovulação e, conseqüentemente, para a melhoria dos índices reprodutivos em ovelhas submetidas à sincronização hormonal (Donrov et al., 1998; Menchaca; Rubianes, 2011).

A utilização da eCG é particularmente relevante em ovinos submetidos a condições fisiológicas ou ambientais desfavoráveis à reprodução, como o anestro sazonal, a baixa atividade ovariana ou a reduzida condição corporal. Nessas situações, a secreção endógena de FSH e LH pode ser insuficiente para garantir ovulações sincronizadas e férteis, tornando necessária a suplementação exógena com eCG para otimizar os resultados reprodutivos (Dias et al., 2001; Gibbons et al., 2019).

Entretanto, a resposta à eCG é dependente da dose administrada e pode variar de acordo com fatores como raça, idade, paridade e estação do ano. Doses excessivas podem levar a crescimento folicular exacerbado, ovulações múltiplas e aumento da taxa de partos gemelares, além de, em determinadas circunstâncias, comprometer a qualidade oocitária e a sobrevivência embrionária (Armstrong et al., 1983; Abecia et al., 2012; Souza-fabjan et al., 2021).

Nesse contexto, ao serem avaliados protocolos hormonais em ovelhas deslanadas na região Nordeste do Brasil, demonstraram que a sincronização do estro realizada sem a administração de eCG foi ineficiente tanto para a manifestação do estro quanto para a indução da ovulação. Em contrapartida, a associação da sincronização com doses de 200 ou 400 UI de

eCG resultou em aumento significativo da fertilidade, especialmente quando seguida de inseminação artificial intrauterina com sêmen congelado (Dias et al., 2001).

De maneira geral, a maioria dos protocolos de sincronização do estro em ovinos incorpora a administração de gonadotrofina coriônica equina (eCG), em razão de sua reconhecida capacidade de aumentar a incidência e antecipar a ovulação, além de favorecer os índices de fertilidade, particularmente em programas de inseminação artificial, incluindo a inseminação intrauterina com sêmen congelado (Dias et al., 2001; Menchaca; Rubianes, 2004).

Adicionalmente, o aumento da taxa de partos gemelares frequentemente observado após a utilização da eCG tem sido atribuído ao seu efeito superovulatório, resultante do recrutamento e do desenvolvimento concomitante de múltiplos folículos ovarianos. Esse efeito decorre da atividade gonadotrófica prolongada do hormônio, que estimula o crescimento folicular além do padrão fisiológico observado em ciclos naturais, refletindo positivamente no número de ovulações e, conseqüentemente, no tamanho da ninhada (Bartlewski et al., 2011; Abecia et al., 2012).

2.4.2 INFLUÊNCIA DO MOMENTO DE ADMINISTRAÇÃO NA RESPOSTA HORMONAL

Embora a gonadotrofina coriônica equina (eCG) seja amplamente utilizada em protocolos de sincronização do estro em ovinos, o momento da sua administração em relação à retirada dos dispositivos intravaginais contendo progesterona ou progestágenos tem sido objeto de investigação devido à sua potencial influência sobre a dinâmica folicular, a sincronização da ovulação e os índices reprodutivos subsequentes.

Tradicionalmente, a eCG é administrada no momento da remoção do dispositivo intravaginal, coincidindo com a queda abrupta das concentrações plasmáticas de progesterona. Nessa condição, a gonadotrofina atua estimulando o crescimento dos folículos previamente recrutados durante o tratamento progestagênico, favorecendo sua maturação final e contribuindo para uma ovulação mais sincronizada entre as fêmeas do lote (Menchaca; Rubianes, 2004; Abecia et al., 2012).

Entretanto, alguns estudos sugerem que a administração da eCG antes da retirada do dispositivo intravaginal pode promover alterações favoráveis na dinâmica ovariana. A aplicação antecipada proporciona um período adicional para a ação gonadotrófica sobre os folículos em desenvolvimento, permitindo maior recrutamento folicular, crescimento mais uniforme dos folículos dominantes e melhor preparação do ovário para a ovulação após a remoção da fonte exógena de progesterona (Hashim et al., 2013; Dias et al., 2017).

Do ponto de vista fisiológico, a resposta hormonal desencadeada pela eCG depende da presença de folículos capazes de responder aos estímulos gonadotróficos. Quando administrada antes da retirada do dispositivo, a eCG pode iniciar precocemente o estímulo aos receptores ovarianos de FSH e LH, favorecendo a progressão dos folículos para estágios mais avançados de desenvolvimento antes do restabelecimento completo da atividade gonadotrófica endógena. Como consequência, observa-se frequentemente redução da variabilidade no intervalo entre a retirada do dispositivo e a ocorrência da ovulação, aumentando a sincronização do evento ovulatório entre as fêmeas tratadas (Bartlewski et al., 2011; Hashim et al., 2013).

Além dos efeitos sobre a dinâmica folicular, o momento da administração da eCG pode influenciar a produção de esteroides ovarianos. O crescimento acelerado dos folículos estimulado pela gonadotrofina favorece o aumento da síntese de estradiol, hormônio responsável pela manifestação comportamental do estro e pela preparação do trato reprodutivo para a fecundação. Dessa forma, protocolos que promovem adequada sincronização entre crescimento folicular, produção estrogênica e ovulação tendem a apresentar melhores resultados reprodutivos, particularmente em programas de inseminação artificial em tempo fixo (Fonseca; Bruschi, 2008; Abecia et al., 2014).

Contudo, a superioridade de um momento específico de administração da eCG ainda permanece controversa na literatura. Enquanto alguns trabalhos relatam benefícios da aplicação antecipada em termos de sincronização folicular e manifestação do estro, outros não identificam diferenças significativas nas taxas de fertilidade quando a administração é realizada 24 a 48 horas antes da retirada do dispositivo ou no próprio momento da sua remoção (Correia et al., 2013; Dias et al., 2017). Essas divergências podem estar relacionadas a fatores como raça, estação reprodutiva, condição corporal, duração do protocolo hormonal, dose utilizada e estado fisiológico das fêmeas.

Em ovelhas submetidas a protocolos de inseminação artificial cervical, a sincronização precisa da ovulação assume importância ainda maior, uma vez que a fertilização depende da coincidência temporal entre a presença de espermatozoides viáveis no trato reprodutivo e a disponibilidade do oócito. Pequenas variações no momento da ovulação podem comprometer a taxa de fecundação, especialmente quando se utiliza sémen refrigerado, cuja longevidade no trato genital feminino é inferior à observada em condições de monta natural (Evans; Maxwell, 1987; Valentim et al., 2016).

Dessa forma, a definição do momento ideal para administração da eCG representa um componente estratégico dos protocolos de sincronização do estro em ovinos. A compreensão dos efeitos hormonais decorrentes da aplicação antecipada ou concomitante à retirada dos dispositivos progestagênicos permite otimizar a sincronização ovulatória, reduzir a variabilidade

fisiológica entre as fêmeas e potencializar os resultados dos programas de inseminação artificial.

2.4.3 SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E TAXA DE FERTILIDADE

A sincronização do estro constitui uma ferramenta fundamental para a otimização da eficiência reprodutiva em ovinos, especialmente quando associada a programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O uso de protocolos hormonais permite o controle do ciclo estral, a padronização do momento da ovulação e a redução da dependência da detecção de estro, fatores essenciais para a melhoria das taxas de fertilidade em sistemas produtivos intensivos e extensivos (Evans; Maxwell, 2000; Abecia et al., 2012).

Os protocolos de sincronização do estro em ovinos baseiam-se, predominantemente, na utilização de dispositivos intravaginais liberadores de progesterona ou progestágenos, como esponjas impregnadas com acetato de fluorogestona (FGA), acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou dispositivos do tipo CIDR. Esses tratamentos promovem a supressão temporária da atividade ovariana e, após a retirada do dispositivo, possibilitam a retomada sincronizada do crescimento folicular e da ovulação (Menchaca; Rubianes, 2004; Gibbons et al., 2019).

A associação da gonadotrofina coriônica equina (eCG) aos protocolos de sincronização do estro desempenha papel determinante na melhoria da resposta estral e das taxas de fertilidade em ovinos. Esse hormônio apresenta atividade gonadotrófica dual, com efeitos semelhantes aos hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH), além de meia-vida biológica prolongada, o que resulta em estímulo sustentado ao crescimento folicular, aumento da taxa de ovulação e maior sincronia ovulatória entre as fêmeas tratadas. Quando administrada no momento da retirada do dispositivo progestagênico, a eCG favorece a emergência de uma onda folicular mais homogênea e a ocorrência da ovulação dentro de um intervalo previsível, condição essencial para o sucesso dos programas de inseminação artificial em tempo fixo (Menchaca; Rubianes, 2011; Bartlewski et al., 2011; Gibbons et al., 2019).

A influência da eCG sobre a taxa de fertilidade torna-se particularmente evidente quando comparados protocolos com e sem a administração dessa gonadotrofina. Fêmeas sincronizadas exclusivamente com progestágenos apresentam maior incidência de falhas ovulatórias, especialmente em tratamentos de curta duração, o que compromete os índices reprodutivos subsequentes (Menchaca; Rubianes, 2004; Dogan; Nur, 2006). Em contraste, a inclusão da eCG reduz significativamente essas falhas, assegurando maior proporção de ovulações efetivas e, conseqüentemente, melhores taxas de concepção e parição (Ustuner et al., 2007; Lamrani et al., 2008).

A duração do tratamento com progestágenos também exerce influência sobre a

fertilidade, sobretudo quando analisada em associação com a administração da eCG. Protocolos de longa duração associados à gonadotrofina promovem antecipação do início do estro e da ovulação, além de maior concentração temporal da manifestação estral, o que favorece a coincidência entre a ovulação e o momento da inseminação (Menchaca; Rubianes, 2004; Abecia et al., 2012). Por outro lado, protocolos de curta duração sem eCG tendem a apresentar menor eficiência ovulatória e redução das taxas de fertilidade, especialmente em fêmeas submetidas a condições fisiológicas menos favoráveis (Dias et al., 2001; Gibbons et al., 2019).

A utilização da eCG mostra-se ainda estratégica em situações de anestro sazonal, baixa atividade ovariana ou condição corporal reduzida, nas quais a secreção endógena de FSH e LH é insuficiente para garantir ovulações sincronizadas e férteis. Nessas circunstâncias, a suplementação exógena com eCG contribui para o restabelecimento da dinâmica folicular e para o aumento da fertilidade após a sincronização do estro (Dias et al., 2001; Boscos et al., 2002).

Entretanto, a resposta reprodutiva à eCG é dependente da dose administrada e de fatores intrínsecos às fêmeas, como raça, idade, paridade e estação do ano. Doses elevadas podem induzir crescimento folicular excessivo, aumento da taxa de ovulações múltiplas e maior incidência de partos gemelares, além de, em determinadas condições, comprometer a qualidade oocitária e a sobrevivência embrionária (Armstrong et al., 2000; Ataman et al., 2006; Souza-Fabjan et al., 2021).

De maneira integrada, a sincronização do estro associada à administração adequada de eCG promove maior sincronia ovulatória, redução das falhas reprodutivas e incremento das taxas de fertilidade em ovinos. A definição do protocolo hormonal, considerando a duração do tratamento com progestágenos e o momento da aplicação da gonadotrofina, constitui elemento central para o sucesso dos programas de inseminação artificial e para a eficiência reprodutiva dos rebanhos ovinos (Armstrong et al., 1983; Menchaca; Rubianes, 2004; Abecia et al., 2012; Gibbons et al., 2019).

2.5 Interferência do estresse na taxa de prenhez

A resposta ao estresse em ovelhas é mediada primariamente pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), um sistema neuroendócrino responsável por integrar estímulos ambientais, físicos e psicológicos às respostas fisiológicas adaptativas. Diante de um agente estressor, ocorre a liberação de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) pelo hipotálamo, que estimula a hipófise anterior a secretar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), culminando na liberação de glicocorticoides, principalmente o cortisol, pelas glândulas adrenais (Narayan; Parisella, 2017).

O cortisol exerce efeitos regulatórios amplos sobre o metabolismo, o sistema imune e o comportamento, porém também atua de forma direta e indireta sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HPG). Em ovelhas, níveis elevados de cortisol estão associados à supressão da liberação pulsátil de GnRH, resultando em diminuição da secreção de LH e FSH pela hipófise anterior (Dobson et al., 2012). Esse mecanismo representa uma estratégia adaptativa de sobrevivência, priorizando funções vitais em detrimento da reprodução; contudo, quando ativado em períodos críticos do ciclo reprodutivo, torna-se prejudicial à eficiência reprodutiva.

Além da ação central, os glicocorticoides também atuam em tecidos periféricos, como ovários e útero, alterando a sensibilidade dos receptores hormonais e modulando a expressão gênica relacionada à esteroidogênese e à receptividade uterina. Essa interação entre os eixos HHA e HPG constitui um dos principais mecanismos fisiológicos pelos quais o estresse compromete a reprodução em ovinos (Narayan; Parisella, 2017).

A função reprodutiva feminina em ovelhas apresenta elevada sensibilidade às alterações neuroendócrinas induzidas pelo estresse. A redução da frequência e da amplitude dos pulsos de LH, decorrente do aumento dos glicocorticoides circulantes, compromete a dinâmica folicular, podendo atrasar ou inibir a ovulação e afetar negativamente a qualidade do oócito (Dobson et al., 2012).

Além disso, o estresse interfere na expressão comportamental do estro, reduzindo sua intensidade e duração, o que pode dificultar a detecção do cio e comprometer o sucesso de programas de monta natural ou inseminação artificial. O estresse psicológico e físico, incluindo contenção e procedimentos de manejo, é capaz de alterar significativamente o comportamento estral em ovelhas, mesmo na presença de níveis adequados de estradiol (Dobson, 2012).

Os hormônios do estresse, particularmente o cortisol e outros glicocorticoides, desempenham papéis significativos na modulação de diversos processos fisiológicos, incluindo aqueles diretamente relacionados à reprodução. Compreender como esses hormônios afetam os desfechos reprodutivos é essencial para melhorar as taxas de fertilidade e a saúde geral dos rebanhos. Outro aspecto relevante é o impacto do estresse sobre a função luteal. O aumento do cortisol pode reduzir a produção de progesterona pelo corpo lúteo, hormônio essencial para a manutenção do ambiente uterino adequado à gestação inicial. Essa interferência hormonal compromete a preparação endometrial e a capacidade do útero em sustentar o desenvolvimento embrionário nos estágios iniciais da gestação (Narayan; Parisella, 2017).

A exposição ao estresse durante o período periovulatório está associada à redução da taxa de concepção em ovelhas. Estressores como manejo intensivo, procedimentos reprodutivos, transporte, contenção prolongada e estresse térmico elevam os níveis de cortisol justamente no período em que a sincronização hormonal e a fertilização dependem de um equilíbrio endócrino

preciso (Dobson et al., 2012).

A eficiência reprodutiva em ovinos e caprinos é intrinsecamente ligado ao equilíbrio hormonal, que é frequentemente perturbado pelo estresse hormônios (Dobson et al., 2012; Tüfekci e Sejian, 2023). Entre os principais hormônios do estresse, como catecolaminas e glicocorticóides, os principais reguladores foram identificados. O estresse hormônio, o cortisol, produzido no córtex adrenal, é o principal glicocorticóide que desempenha um papel no metabolismo, sistema imunológico modulação e regulação do sistema hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) (Thau et al., 2023).

O estresse pode comprometer a concepção ao interferir na liberação do oócito, na qualidade dos gametas e na sincronização entre ovulação e inseminação artificial. Em protocolos de IA, especialmente aqueles que utilizam sincronização hormonal, a ativação do eixo HHA pode resultar em assincronia entre o momento da ovulação e a presença de espermatozoides viáveis no trato reprodutivo feminino, reduzindo a probabilidade de fertilização bem-sucedida (COSTA et al., 2024).

Além disso, o aumento do cortisol pode modificar o ambiente uterino logo após a fecundação, afetando a sobrevivência do zigoto nas primeiras divisões celulares. Dessa forma, mesmo quando a fertilização ocorre, o estresse pode reduzir a taxa de prenhez observada, devido à mortalidade embrionária muito precoce, muitas vezes não detectável clinicamente (Van et al., 2021).

2.5.1 Perdas embrionárias precoces associadas ao estresse

As perdas embrionárias precoces representam uma das principais consequências do estresse sobre a eficiência reprodutiva em ovelhas. O período crítico compreende os primeiros dias após a fecundação até o reconhecimento materno da gestação, fase em que o embrião depende fortemente de um ambiente uterino estável e de níveis adequados de progesterona (Van Wettere et al., 2021).

A elevação do cortisol durante esse período pode comprometer a função luteal, reduzindo a secreção de progesterona e alterando a vascularização uterina. Além disso, há evidências de que o estresse afeta a expressão gênica tanto no embrião quanto no endométrio, interferindo em processos essenciais como a elongação embrionária, a sinalização para o reconhecimento materno da gestação e a manutenção do corpo lúteo. Essas alterações podem resultar em assincronia entre o desenvolvimento embrionário e o ambiente uterino, comprometendo a implantação e aumentando as taxas de mortalidade embrionária precoce. Em ruminantes, o estresse está associado à redução da expressão de interferon-tau (IFN- τ) pelo concepto,

molécula-chave para o bloqueio da luteólise e para o estabelecimento da gestação, além de modular negativamente a expressão de genes endometriais relacionados à receptividade uterina e à angiogênese (Hansen, 2007; Spencer et al., 2008; Wiltbank et al., 2016).

O estresse térmico e outros estressores aplicados nos primeiros 10 a 14 dias pós-fecundação aumentam significativamente a taxa de mortalidade embrionária em ovinos. Essas perdas, frequentemente subclínicas, manifestam-se como falhas na confirmação da prenhez, impactando negativamente os índices reprodutivos dos rebanhos (Van Wettere et al., 2021).

2.5.2 Importância do momento do estressor (ênfase em manejo e tosquia pós-IA)

O momento em que o estressor ocorre é um fator determinante para a magnitude de seus efeitos sobre a reprodução. Em ovelhas, o período periovulatório e os primeiros dias após a inseminação artificial constituem fases de extrema sensibilidade fisiológica, nas quais pequenas alterações endócrinas podem resultar em falhas reprodutivas significativas (Dobson et al., 2012). Estressores aplicados após a inseminação artificial, como tosquia, transporte ou manejo intensivo, promovem ativação aguda do eixo HHA, elevando rapidamente os níveis de cortisol. A tosquia, em particular, envolve contenção física, manipulação intensa e alteração abrupta da termorregulação, sendo reconhecida como um estressor relevante para ovinos (Narayan; Parisella, 2017).

Quando realizada no período inicial da gestação, a tosquia pode interferir na função luteal e no ambiente uterino, aumentando o risco de perdas embrionárias precoces. A literatura destaca que estressores ocorridos nos primeiros dias pós-fecundação têm impacto mais severo sobre a taxa de prenhez do que aqueles aplicados em fases mais avançadas da gestação (Van Wettere et al., 2021).

Dessa forma, o planejamento criterioso das práticas de manejo reprodutivo é de suma importância, recomendando a minimização de estressores durante o período crítico pós-inseminação, a fim de preservar a estabilidade neuroendócrina necessária para o estabelecimento e manutenção inicial da gestação em ovelhas. (Frontiers in animal science, 2025).

2.6 PERÍODO CRÍTICO DO INÍCIO DA GESTAÇÃO EM OVINOS

O período crítico do início da gestação em ovinos compreende os primeiros 15 a 20 dias após a fecundação, fase em que ocorrem eventos determinantes para o estabelecimento e a manutenção da prenhez. Nesse intervalo, processos como o desenvolvimento embrionário

precoce, a elongação do conceito, o reconhecimento materno da gestação, a manutenção funcional do corpo lúteo (CL) e a adequada sinalização endócrina estabelecem as bases para a continuidade da gestação. A falha em qualquer um desses mecanismos pode resultar em mortalidade embrionária precoce, frequentemente antes mesmo do diagnóstico gestacional (Spencer et al., 2020; Wiltbank et al., 2022).

Em ovinos, o reconhecimento materno da gestação ocorre aproximadamente entre os dias 12 e 16 pós-estro e depende fundamentalmente da secreção de interferon-tau (IFN- τ) pelo trofotoderma do conceito alongado. Essa citocina atua de forma parácrina no endométrio, suprimindo a expressão dos receptores endometriais de ocitocina (OXTR) e, consequentemente, bloqueando a liberação pulsátil de prostaglandina F $_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$), responsável pela luteólise (Spencer et al., 2020).

A adequada produção de IFN- τ está diretamente relacionada à taxa de elongação embrionária e à competência do conceito, processos que dependem tanto da qualidade do oócito quanto do ambiente uterino. Alterações no microambiente endometrial, incluindo modificações na secreção de histótrofo, citocinas e fatores de crescimento, podem comprometer a sinalização embrionária e resultar em falhas no reconhecimento materno (Bazer et al., 2021; Forde et al., 2021).

A manutenção do CL durante o início da gestação é condição *sine qua non* para a continuidade da prenhez. A progesterona (P4), secretada pelo CL, regula a diferenciação funcional do endométrio, promove a expressão de genes estimulados por progesterona (progesterone-stimulated genes, PSGs) e modula a secreção de proteínas uterinas essenciais ao desenvolvimento e à sobrevivência embrionária (Wiltbank et al., 2022).

A concentração plasmática de P4 nos primeiros dias após a ovulação exerce influência decisiva sobre a taxa de crescimento embrionário e o momento da elongação. Concentrações subótimas de progesterona podem retardar o desenvolvimento do conceito, reduzindo a produção de IFN- τ e aumentando o risco de luteólise prematura (Forde et al., 2021). Por outro lado, níveis adequados e precoces de P4 favorecem a sincronia entre o estágio de desenvolvimento embrionário e a receptividade uterina, reduzindo perdas embrionárias.

A estabilidade luteal durante esse período também depende do equilíbrio entre fatores luteotróficos e luteolíticos. A inibição efetiva da síntese e liberação de PGF $_{2\alpha}$ pelo endométrio é determinante para evitar a regressão luteal. Qualquer falha na comunicação conceito-endométrio pode resultar em retomada da cascata luteolítica e perda gestacional (Spencer et al., 2020; Wiltbank et al., 2022).

O período inicial da gestação em ovinos é altamente vulnerável a perturbações endócrinas e ambientais. Estressores metabólicos, nutricionais ou térmicos podem alterar a dinâmica

folicular prévia, a qualidade luteal e o perfil de progesterona circulante, afetando indiretamente a competência embrionária (Hansen, 2020; Wiltbank et al., 2022).

A elevação de glicocorticoides, particularmente o cortisol, está associada à modulação negativa do eixo hipotálamo–hipófise–ovário, podendo comprometer a função luteal e reduzir a secreção de progesterona. Além disso, o estresse pode interferir na expressão gênica endometrial e embrionária, alterando vias relacionadas à angiogênese, remodelamento tecidual e sinalização imunomodulatória, essenciais para o estabelecimento da gestação. Perturbações endócrinas que resultem em assincronia entre o desenvolvimento do conceito e o ambiente uterino representam um dos principais mecanismos envolvidos na mortalidade embrionária precoce. Assim, o sucesso reprodutivo em ovinos depende de um delicado equilíbrio entre competência embrionária, adequada secreção de progesterona, integridade funcional do CL e ambiente uterino receptivo durante esse período crítico (Hansen, 2020; Bazer et al., 2021).

II Parte – 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 de 627 metros), pertencente à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança (ESA-IPB), entre 16 de abril e 11 de junho de 2025. Durante este período, a região apresentou condições climáticas típicas da primavera portuguesa, caracterizadas por temperaturas amenas, com médias variando aproximadamente entre 10 °C e 22 °C, e precipitação moderada, condições que favoreceram o manejo dos animais e a realização das atividades experimentais.

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 subsequentes à inseminação artificial (IA), o aporte energético/proteico da dieta manteve-se constante.

Este ensaio teve início com a determinação da condição corporal (CC), segundo a tabela de classificação de Russel *et al.* (1969). Foram considerados intervalos de 0,25 ponto.

1.1. ANIMAIS

Neste trabalho, foram utilizadas 76 ovelhas da raça CGB, com idades entre 1 e 9 anos. A última parição havia ocorrido há pelo menos 90 dias. Foram ainda usados 3 carneiros CGB, com 4-5 anos de idade.



Figura 1 – Raça churra galega bragançana.

1.2. TOSQUIA DAS OVELHAS

No dia 16 de abril, as ovelhas foram divididas em 3 grupos: D₋₁₅, D₊₁₅ e D₊₃₀ pós-IA. As ovelhas do primeiro grupo (n = 24) foram tosquiadas 15 dias antes (D₋₁₅), as do segundo grupo (n = 26) 15 dias depois (D₊₁₅) e as do terceiro grupo (n = 27) 30 dias pós-IA (D₊₃₀).

As ovelhas foram tosquiadas mecanicamente (Heiniger® CH - 3360 herzogenbuchsee), sempre pelo mesmo técnico. O tempo de tosquia de cada ovelha rondou os 3-4 minutos.



Figura 2 – Procedimento de tosquia das ovelhas.

1.3. TRATAMENTO HORMONAL APLICADO

No dia 23 de abril de 2025, 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 P₄ teve a duração de 5 dias.

Quarenta e oito horas antes da remoção das esponjas vaginais (-48 horas; 26 de abril de 2025), 39 ovelhas receberam a administração intramuscular de 400 UI de eCG (Intergonan®, Intervet, Portugal). As demais 38 ovelhas receberam esta administração de eCG quando da remoção dos dispositivos vaginais (0 horas; 28 de abril de 2025).

1.4. RECOLHA DE SÉMEN

Os 3 carneiros dadores de sémen (A, B e C) estavam alojados na Quinta de Sta. Apolónia. Por seu turno, as ovelhas inseminadas estavam instaladas na Quinta do Pinheiro Manso, a cerca de 9 quilómetros. Os ejaculados foram recolhidos na manhã do dia da IA, com recurso a vaginas artificiais da Minibube (Minitüb, Tiefenbach, Alemanha). Os carneiros dadores de sémen não ejaculavam há cerca de 1 semana.

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

1.5. ANÁLISES SEMINAIS

O volume foi medido por meio da graduação existente nos tubos coletores. De seguida, os ejaculados foram diluídos (1:1) com um diluidor comercial – OvixCell® (IMV, L'Aigle, França). A concentração espermática (espermatozoides/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 (Göttingen, 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-Vennep, Holanda).

A percentagem de espermatozoides com gota citoplasmática foi calculada com o auxílio de um microscópio Motic Série BA 310 (Motic®, Hong Kong, China). Foram avaliados 300 espermatozoides.

Os ejaculados utilizados apresentavam: volume $\geq 0,8$ ml, concentração $\geq 3,0 \times 10^9$ SPZ/ml e motilidade $\geq 75\%$.

1.6. DOSES SEMINAIS

Feitas as análises seminais, o volume de sémen diluído foi ajustado aos valores calculados pelo programa Androvision® (Minitüb, Tiefenbach, Alemanha), de modo a garantir que as palhinhas de sémen continham, no mínimo, 200×10^6 espermatozoides (SPZ).

De seguida, a temperatura do sémen diluído foi reduzida, durante cerca de 120 minutos, de 37° para 15°C (-0,18°C/minuto), com recurso a um banho-maria refrigerado (Neslab® RTE 221, Newington, EUA).

Após 10 minutos de repouso, 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 (30 de abril de 2025), independentemente de terem manifestado cio ou não, 55 + 1 horas após a 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.

A deposição do sêmen foi feita sempre o mais profundamente possível sem, no entanto, forçar a passagem do pistolete pelo canal cervical.

1.8. POSIÇÃO DAS OVELHAS DURANTE A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

A IA foi realizada no ovelheiro 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 3 – Realização da inseminação artificial cervical nas ovelhas.

1.9. DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

Quarenta e dois dias após a IA (11 de junho de 2025), procedeu-se ao diagnóstico de gestação por meio de ultrassonografia em tempo real, com o auxílio de um ecógrafo Mindray Z5Vet e de uma sonda abdominal multifrequência (5,0-10,0 MHz).



Figura 4- Ultrassonografia transabdominal para diagnóstico de gestação nas ovelhas do experimento.

1.10. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para identificar diferenças estatisticamente significativas entre alguns parâmetros, realizaram-se análises de variância (Steel e Torrie, 1980). A comparação entre médias foi realizada pelo teste de Bonferroni/Dunn (Dunn, 1961). Com o intuito de comparar frequências, utilizou-se o teste do qui-quadrado (χ^2) (Snedecor e Cochran, 1980).

Foram realizadas análises de covariáveis (Snedecor e Cochran, 1980). A variável resposta foi a taxa de fertilidade (Gestante: 0/1). A relação entre a variável resposta e as variáveis explicativas (CC e momento da tosquia) foi avaliada por meio de modelos lineares generalizados (GLM), com distribuição binomial e função de ligação logit (regressão logística). O modelo completo incluiu o momento da tosquia (D_{-15} , D_{+15} , D_{+30}) como fator e a CC (contínua) como covariável, incluindo o termo de interação Tosquia $\times$ CC. Para facilitar a interpretação dos efeitos principais na presença de interação, a CC foi centrada na média amostral ($CC_c = CC - \bar{CC}$). Foram calculadas probabilidades marginais ajustadas e os respectivos IC (intervalos de confiança) de 95%. A calibração foi avaliada por agrupamento por decís (teste Hosmer-Lemeshow) e a discriminação por curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) (AUC; *Area Under the Curve*). A multicolinearidade foi avaliada pelo VIF (*Variance Inflation Factor*) e pela influência, por meio de medidas de *Cook's distance*.

O programa estatístico utilizado foi o JMP® Statistical Discovery 19 (SAS Institute Inc., Cary, EUA).



Figura 5 – Avaliação microscópica do ejaculado utilizando o sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis.)

2. RESULTADOS

A idade média das ovelhas estudadas era de $3,5 \pm 2,0$ anos (c.v. = 56,2%) (Quadro I). A idade não afetou a CC das ovelhas ($P>0,05$). A idade das ovelhas que receberam a administração de eCG 48 horas antes ($3,6 \pm 2,1$ anos; c.v. = 57,9%) ou quando da remoção das esponjas vaginais ($3,4 \pm 1,8$ anos; c.v. = 54,5%) não variou significativamente ($P>0,05$). A idade das ovelhas tosquiadas D₋₁₅ ($3,4 \pm 1,8$ anos; c.v. = 53,0%), D₊₁₅ ($3,5 \pm 2,0$ anos; c.v. = 56,7%) e D₊₃₀ ($3,6 \pm 2,2$ anos; c.v. = 59,8%) não diferiu significativamente ($P>0,05$). No mesmo sentido, não se verificaram diferenças significativas ($P>0,05$) na idade das ovelhas inseminadas com o sêmen dos carneiros A ($2,7 \pm 1,4$ anos; c.v. = 51,2%), B ($3,7 \pm 2,1$ anos; c.v. = 55,3%) e C ($3,4 \pm 2,0$ anos; c.v. = 57,3%).

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

Idade	CGB (%) (n)
≤ 2 anos	37,7% (n = 29)
3-6 anos	54,5% (n = 42)
≥ 7 anos	7,8% (n = 6)

No início deste estudo, as ovelhas estudadas apresentavam uma CC média de $3,6 \pm 0,8$ pontos (c.v. = 22,2%) (Quadro II).

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

Idade	CC (pontos) (c.v.)
≤ 2 anos	$3,3 \pm 0,9^a$ (27,8%)
3-6 anos	$3,9 \pm 0,6^a$ (15,8%)
≥ 7 anos	$3,3 \pm 1,0^a$ (29,1%)

a = a, para $P>0,05$.

Foram observadas diferenças significativas na CC das ovelhas tosquiadas D₋₁₅ ($3,9 \pm 0,7$ pontos; c.v. = 18,1%) e D₊₃₀ ($3,2 \pm 0,8$ pontos; c.v. = 59,8%) ($P\leq 0,01$). A CC das ovelhas tosquiadas D₊₁₅ ($3,7 \pm 0,7$ pontos; c.v. = 20,3%) não diferiu da das demais ovelhas ($P>0,05$). Estes resultados revelam uma distribuição desigual da CC entre os grupos de tosquia, o que pode confundir as comparações diretas entre eles.

A CC das ovelhas que receberam a administração de eCG 48 horas antes ($3,6 \pm 0,8$ pontos;

c.v. = 21,1%) ou quando da remoção das esponjas vaginais ($3,6 \pm 0,8$ pontos; c.v. = 23,6%) não variou significativamente ($P > 0,05$). De igual modo, não se observaram diferenças significativas ($P > 0,05$) na CC das ovelhas inseminadas com o sêmen dos carneiros A ($4,0 \pm 0,4$ pontos; c.v. = 10,1%), B ($3,4 \pm 0,9$ pontos; c.v. = 25,1%) e C ($3,7 \pm 0,8$ pontos; c.v. = 20,4%).

2.1. CARACTERÍSTICAS SEMINAIS

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

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

Macho	Volume (ml)	Concentração espermática (SPZ/ml)	Motilidade (%)	Gota citoplasmática (%)
A	0,8	3.186×10^6	87,4 ^a	5,0% ^x
B	1,0	4.386×10^6	93,2 ^a	31,0% ^y
C	1,5	3.407×10^6	92,2 ^a	3,0% ^x

a = a, para $P > 0,05$ (motilidade, entre carneiros).

x = x, para $P > 0,05$; x ≠ y, para $P \leq 0,001$ (gota citoplasmática, entre carneiros).

A taxa de fertilidade das ovelhas CGB foi afetada pela qualidade do sêmen produzido pelos carneiros dadores (A: 83,3% vs. B: 58,3% vs. C: 57,7%) ($\chi^2 = 18,7$; $P \leq 0,001$). As diferenças observadas não foram influenciadas pela motilidade espermática ($\chi^2 = 2,4$; $P > 0,05$). Contudo, a percentagem de espermatozoides com gota citoplasmática presente no sêmen do carneiro B mostrou-se superior à dos carneiros A (A: 5,0% vs. B: 31,0%; $\chi^2 = 22,9$; $P \leq 0,001$) e C (B: 31,0% vs. C: 3,0%; $\chi^2 = 27,8$; $P \leq 0,001$). A diferença registada entre os carneiros A e C revelou-se não significativa (A: 5,0% vs. C: 3,0%; $\chi^2 = 0,5$; $P > 0,05$).

2.2. TAXA DE FERTILIDADE PÓS-INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Quarenta e dois dias pós-IA, 55,8% (n = 43) das ovelhas CGB estavam gestantes. A taxa de fertilidade foi afetada pela idade das ovelhas ($P \leq 0,01$). Ela diminuiu com o aumento da idade das fêmeas (Quadro IV).

A taxa de fertilidade também foi condicionada pela CC ($P \leq 0,05$). Ela diminuiu com o aumento da CC das fêmeas (Quadro V).

A taxa de fertilidade das ovelhas CGB não foi influenciada pelo momento da administração de eCG (-48 horas: 51,3% vs. 0 horas: 60,5%; $\chi^2 = 1,6$; $P > 0,05$).

Quadro IV – Taxa de fertilidade observada segundo três classes de idade

Idade	Taxa de fertilidade (%) (n)
≤ 2 anos	69,0% ^a (n = 29)
3-6 anos	52,4% ^b (n = 42)
≥ 7 anos	16,7% ^c (n = 6)

a ≠ b, para $P \leq 0,05$; a ≠ c, para $P \leq 0,001$; b ≠ c, para $P \leq 0,001$.

O momento em que foi realizada a tosquia influenciou a taxa de fertilidade ($\chi^2 = 7,7$; $P \leq 0,05$). Esta taxa mostrou-se mais elevada quando a tosquia foi realizada 15 dias antes da IA e mais baixa quando realizada 30 dias após a IA (Quadro VI).

Quadro V – Taxa de fertilidade observada segundo três intervalos de condição corporal (CC)

CC	Taxa de fertilidade (%)
< 2,5 pontos	90,9% ^a
2,5-3,0 pontos	66,7% ^b
> 3 pontos	48,3% ^c

a ≠ b, para $P \leq 0,001$; a ≠ c, para $P \leq 0,001$; b ≠ c, para $P \leq 0,01$.

A taxa de fertilidade foi afetada tanto pela CC como pelo momento em que foi realizada a tosquia. Tal como foi anteriormente referido, a distribuição desigual da CC entre os grupos de tosquia dificultou as comparações diretas entre eles. Na regressão logística (binomial/logit), a interação Tosquia x CC não foi significativa ($P > 0,05$). No modelo sem interação, a maior CC foi significativamente associada a menor taxa de fertilidade (OR=0,293 por +1 ponto de CC; $P \leq 0,01$) e a tosquia em D₊₃₀ apresentou menor taxa de fertilidade ajustada do que D₋₁₅ (OR=0,173; $P \leq 0,05$). As probabilidades ajustadas em CC média foram 0,772 (D₋₁₅), 0,586 (D₊₁₅) e 0,370 (D₊₃₀). A discriminação do modelo foi moderada (AUC≈0,726), sem evidência de má calibração por agrupamento em decis.

Quadro VI – Taxa de fertilidade observada segundo o momento da tosquia

Tosquia	Taxa de fertilidade (%)
Dia ₋₁₅	66,7% ^a
Dia ₊₁₅	53,8% ^{a,b}
Dia ₊₃₀	48,1% ^b

a = a, para $P > 0,05$; a ≠ b, para $P \leq 0,01$; b = b, para $P \leq 0,01$.

A IA foi cervical em todas as ovelhas (100,0%). Cerca de 44,2% não apresentou refluxo cervical, 41,6% produziu refluxo cervical ligeiro (presença de sémen na estrada de Os externo) e 14,3% refluxo cervical. A taxa de fertilidade não foi afetada pela ocorrência de refluxo (Sem: 55,9% vs. Ligeiro: 53,1% vs. Refluxo: 63,6%) ($\chi^2 = 2,6$; $P > 0,05$).

3. DISCUSSÃO

3.1. IDADE

A idade das ovelhas apresentou um efeito significativo sobre a fertilidade ($P < 0,05$), verificando-se uma redução progressiva da taxa de gestação com o aumento da idade das fêmeas. Este resultado está em concordância com a literatura, na qual a senescência reprodutiva é reconhecida como um dos principais fatores limitantes da eficiência reprodutiva em pequenos ruminantes.

Este declínio pode ser explicado, em primeiro lugar, pela redução da reserva oocitária e pela deterioração progressiva da qualidade uterina associada ao envelhecimento. Segundo Abecia et al. (2012), o avanço da idade compromete tanto a competência dos oócitos como a qualidade do ambiente uterino, podendo reduzir a eficiência do reconhecimento materno da gestação e aumentar a incidência de mortalidade embrionária precoce.

Em paralelo, alterações na função endócrina associadas ao envelhecimento podem também contribuir para a menor eficiência reprodutiva. Estudos mais recentes indicam que a resposta ovariana a protocolos de sincronização hormonal pode ser influenciada pela idade da fêmea, com redução da sensibilidade aos estímulos exógenos e maior variabilidade na dinâmica folicular em animais mais velhos (Abecia et al., 2012; Fair et al., 2019–2023). No presente estudo, é possível que este fator tenha influenciado a resposta ao protocolo com progestagênios e eCG, resultando potencialmente numa menor taxa de ovulação e/ou numa dessincronização entre o momento da ovulação e a inseminação cervical. Consequentemente, tal desfasamento temporal poderá ter reduzido a probabilidade de fecundação, especialmente considerando que, na Inseminação Artificial cervical, o sincronismo entre ovulação e deposição seminal é determinante para o sucesso reprodutivo.

Em contraste, as fêmeas mais jovens, desde que tenham atingido a maturidade fisiológica e o peso corporal crítico, tendem a apresentar um desempenho reprodutivo superior, conforme descrito por Dwyer (2014). Esta superioridade pode estar associada a uma maior qualidade folicular, maior eficiência hormonal e maior contratilidade uterina, o que facilita o transporte dos espermatozoides no trato reprodutivo feminino. Este aspeto é particularmente relevante na Inseminação Artificial cervical, onde a progressão espermática através do cérvix constitui uma etapa limitante do processo reprodutivo (Valentim et al., 2016).

Adicionalmente, a menor fertilidade observada em fêmeas mais velhas pode também estar associada a uma menor resiliência fisiológica a fatores de stress ambiental e de manejo, como a tosquia. O envelhecimento está frequentemente associado a uma redução da capacidade de resposta ao stress oxidativo e hormonal, nomeadamente na regulação do cortisol e na

manutenção da homeostase metabólica (Van Wetters et al., 2021). Assim, embora o efeito da tosquia não tenha sido isolado como fator independente neste estudo, é plausível que a sua interação com a senescência reprodutiva tenha contribuído para amplificar as diferenças de fertilidade observadas entre grupos etários.

3.2. CONDIÇÃO CORPORAL

A taxa de fertilidade foi significativamente influenciada pela condição corporal (CC) e pelo momento da realização da tosquia. Conforme referido anteriormente, observou-se uma distribuição desigual da CC entre os grupos de tosquia, o que pode introduzir um efeito de confusão parcial na comparação direta entre tratamentos. Ainda assim, a análise multivariada permitiu isolar os efeitos principais destas variáveis sobre a resposta reprodutiva.

Na regressão logística binomial, a interação entre tosquia e CC não foi significativa ($P > 0,05$), indicando que o efeito da condição corporal sobre a fertilidade se manteve consistente independentemente do momento de tosquia. No modelo sem interação, verificou-se que o aumento da CC esteve associado a uma diminuição significativa da probabilidade de fertilidade ($OR = 0,293$ por cada incremento de 1 ponto na CC; $P \leq 0,01$). Adicionalmente, a tosquia realizada aos 30 dias pós-inseminação (D+30) apresentou menor taxa de fertilidade ajustada quando comparada com D-15 ($OR = 0,173$; $P \leq 0,05$). As probabilidades ajustadas em condição corporal média foram de 0,772 (D-15), 0,586 (D+15) e 0,370 (D+30), evidenciando um gradiente decrescente de fertilidade associado ao atraso da tosquia. O modelo apresentou discriminação moderada ($AUC \approx 0,726$), sem evidência de má calibração.

Do ponto de vista fisiológico, a condição corporal exerce um papel central na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, influenciando a secreção de gonadotrofinas, a dinâmica folicular e a competência oocitária. De acordo com Abecia et al. (2012), fêmeas em adequado estado energético apresentam maior eficiência na resposta aos protocolos de sincronização hormonal, particularmente à ação da eCG, promovendo um desenvolvimento folicular mais uniforme e aumentando a probabilidade de ovulação funcional.

No entanto, o resultado observado no presente estudo, no qual valores mais elevados de CC estiveram associados a menor fertilidade, pode refletir uma relação não linear entre estado corporal e eficiência reprodutiva. Embora a literatura clássica associe baixos valores de CC a redução da fertilidade (Valentim et al., 2016), também tem sido descrito que estados de sobrecondição podem comprometer a função metabólica e endócrina, afetando negativamente a qualidade oocitária e o ambiente uterino, possivelmente através de alterações na sensibilidade à insulina, no metabolismo energético e na esteroidogênese ovariana.

Adicionalmente, deve considerar-se que a CC, neste estudo, não se apresentou uniformemente distribuída entre os grupos de tosquia, o que pode ter contribuído para um efeito residual de confusão na estimativa do seu impacto direto sobre a fertilidade. Ainda assim, a significância do efeito no modelo ajustado sugere que a CC atua como um modulador independente da resposta reprodutiva.

Contudo, a interpretação deste resultado deve ser realizada com cautela, uma vez que a distribuição da condição corporal não foi homogênea entre os grupos experimentais, podendo existir influência residual de fatores não controlados.

3.3. MOMENTO DA ADMINISTRAÇÃO DE eCG

A avaliação do momento de administração do eCG, realizada 48 horas antes da remoção da esponja vaginal ou no momento da sua retirada. O momento de administração da eCG não influenciou significativamente a fertilidade das ovelhas nas condições deste estudo, demonstrando que ambos os momentos de aplicação podem ser utilizados com eficácia. Este resultado indica que, nas condições experimentais adotadas, ambas as estratégias foram igualmente eficazes na indução de uma resposta reprodutiva adequada

Do ponto de vista teórico, o momento de administração do eCG é considerado um fator relevante na eficiência dos protocolos de sincronização do estro. Estudos realizados na raça Churra Galega Bragançana demonstraram que variações no timing de administração podem influenciar a atividade reprodutiva e a expressão do estro (Correia et al., 2013), o que reforça a importância de avaliar este parâmetro em diferentes condições experimentais.

A ação do eCG está diretamente relacionada com a sua capacidade de se ligar aos recetores de FSH e LH, promovendo o recrutamento, crescimento e maturação dos folículos ováricos, além de contribuir para a sincronização da ovulação (Hashim et al., 2013; Dias et al., 2017). Dessa forma, a sua administração em momentos estratégicos do protocolo hormonal pode influenciar a dinâmica folicular e, consequentemente, o sucesso da inseminação artificial.

Embora no presente estudo não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas, a administração antecipada do eCG (48 horas antes da remoção da esponja) pode, do ponto de vista fisiológico, favorecer uma maturação folicular mais homogênea até o momento da inseminação. Segundo Hashim et al. (2013), este intervalo adicional pode reduzir a variabilidade no tempo entre a retirada do dispositivo e a ovulação, contribuindo para uma maior sincronização entre a disponibilidade do oócito e o momento da deposição do sêmen.

No entanto, a ausência de diferenças entre os tratamentos pode indicar que o protocolo hormonal utilizado foi suficientemente robusto para garantir uma adequada sincronização do estro e ovulação, independentemente do momento de administração do eCG. Este resultado está

de acordo com estudos que sugerem que, quando os protocolos são bem ajustados, a influência do timing do eCG pode ser atenuada por outros fatores, como a condição fisiológica das fêmeas e a eficiência do protocolo de progesterona (Dias et al., 2017).

Assim, os resultados obtidos indicam que ambos os momentos de administração do eCG podem ser utilizados com eficácia em protocolos de inseminação artificial em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana, embora ajustes finos no timing possam ser relevantes em contextos específicos de manejo ou em animais com maior variabilidade fisiológica.

3.4. MOMENTO DA TOSQUIA

No presente estudo, a tosquia realizada 15 dias antes da inseminação artificial (D-15) resultou numa taxa de fertilidade superior (66,7%) quando comparada com o grupo tosquiado 30 dias após a IA (D+30; 48,1%), evidenciando que o momento deste manejo influencia significativamente o sucesso reprodutivo.

A tosquia constitui um procedimento que envolve manipulação intensa, contenção física e exposição a estímulos externos, sendo frequentemente percebida pelos ovinos como um evento estressante (Dwyer, 2014; Hemsworth et al., 2015). Este estresse desencadeia respostas fisiológicas mediadas pela ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, promovendo o aumento da secreção de cortisol. De acordo com Fitzgerald e Stellflug (2012), níveis elevados de cortisol exercem efeito inibitório sobre a secreção de GnRH e LH, hormônios essenciais para o desenvolvimento folicular e para a manutenção da função reprodutiva, podendo comprometer o sucesso da concepção.

Adicionalmente, os resultados inferiores observados nos grupos tosquiados após a inseminação (D+15 e D+30) podem estar associados ao impacto do estresse durante o período crítico do início da gestação. Segundo Van Wettere et al. (2021), a exposição a fatores estressantes nesta fase pode comprometer a função luteal, alterar o ambiente uterino e aumentar a incidência de perdas embrionárias precoces, muitas vezes não detetáveis clinicamente. Este mecanismo pode explicar a menor taxa de fertilidade observada quando a tosquia ocorre após a IA, interferindo negativamente na sobrevivência embrionária. Esta hipótese é consistente com a redução progressiva da fertilidade observada entre os grupos D-15, D+15 e D+30.

Por outro lado, a realização da tosquia antes da inseminação pode ter proporcionado vantagens adicionais relacionadas com a regulação térmica. Fatores ambientais associados à tosquia, como exposição ao frio ou alterações na termorregulação, também podem contribuir para o estresse fisiológico, especialmente em condições climáticas desfavoráveis (Elhadi et al., 2019; Silva et al., 2021).

Assim, os resultados sugerem que tanto a condição corporal como o momento da tosquia influenciam a eficiência reprodutiva, sendo que a interação entre estado metabólico e stress de manejo deve ser considerada como um fator relevante na interpretação da fertilidade em sistemas de Inseminação Artificial cervical.

3.5. CARNEIROS

No presente estudo, os carneiros utilizados na colheita de sémen não apresentaram efeito significativo sobre a taxa de fertilidade das ovelhas inseminadas ($P > 0,05$). Este resultado sugere que a variabilidade individual entre os machos foi insuficiente para influenciar de forma expressiva o sucesso reprodutivo, indicando que os critérios de seleção e controlo da qualidade seminal adotados foram eficazes para garantir uma uniformidade adequada entre os reprodutores utilizados.

A fertilidade em programas de inseminação artificial depende, em grande medida, da qualidade seminal dos carneiros, uma vez que características como motilidade espermática, vigor, integridade de membrana, concentração e morfologia dos espermatozoides estão diretamente relacionadas com a capacidade fecundante do sémen. Segundo Evans e Maxwell (1987), mesmo quando os machos apresentam parâmetros seminais considerados normais, diferenças individuais na fertilidade podem ocorrer devido a fatores relacionados com a funcionalidade espermática, capacidade de sobrevivência no trato reprodutivo feminino e competência para a fecundação.

Diversos estudos demonstram que a fertilidade dos carneiros pode variar significativamente entre indivíduos, mesmo quando os parâmetros laboratoriais de qualidade seminal são semelhantes. Esta variabilidade é frequentemente atribuída a diferenças genéticas, à composição bioquímica do plasma seminal e à resistência dos espermatozoides aos processos de refrigeração e armazenamento (Leahy et al., 2010; Anel et al., 2017). No entanto, quando protocolos rigorosos de avaliação seminal são aplicados, a influência do efeito individual dos carneiros tende a ser reduzida, permitindo uma maior homogeneidade nos resultados reprodutivos.

No caso específico da inseminação artificial com sémen refrigerado, a capacidade dos espermatozoides de manter a viabilidade durante o período de conservação assume particular importância. Durante o processo de refrigeração podem ocorrer alterações estruturais e funcionais na membrana plasmática dos espermatozoides, comprometendo a motilidade e a capacidade de fertilização. Contudo, a utilização de diluentes apropriados e o controlo rigoroso da temperatura de armazenamento contribuem para minimizar estes efeitos e preservar o potencial fecundante do sémen (Salamon & Maxwell, 2000).

Além da qualidade seminal, fatores relacionados com a libido, idade e estado sanitário dos carneiros também podem influenciar indiretamente os resultados reprodutivos. Carneiros jovens ou excessivamente idosos podem apresentar menor produção espermática e maior incidência de alterações morfológicas, enquanto doenças reprodutivas ou sistêmicas podem comprometer a qualidade do ejaculado (Abecia et al., 2012). No presente estudo, todos os machos utilizados encontravam-se clinicamente saudáveis e previamente aprovados em exames andrológicos, o que pode explicar a ausência de diferenças significativas entre os reprodutores.

Importa ainda considerar que, em protocolos de inseminação artificial cervical, fatores relacionados com a fêmea e com o manejo frequentemente exercem maior influência sobre a fertilidade do que pequenas variações individuais entre carneiros. A sincronização adequada do estro, a condição corporal das ovelhas, o momento da inseminação e a técnica de deposição seminal podem atuar como fatores determinantes do sucesso reprodutivo, reduzindo o impacto relativo da variabilidade masculina quando o sêmen apresenta qualidade satisfatória.

Desta forma, os resultados obtidos sugerem que os carneiros utilizados possuíam capacidade fecundante semelhante e adequada para utilização em programas de inseminação artificial cervical com sêmen refrigerado. A ausência de efeito significativo entre os reprodutores reforça a importância dos procedimentos de avaliação andrológica e controle de qualidade seminal como ferramentas essenciais para garantir a uniformidade dos resultados reprodutivos em sistemas de reprodução assistida de ovinos.

3.6. REFLUXO CERVICAL

A ocorrência de refluxo cervical após a inseminação artificial é um evento frequentemente observado em ovelhas, particularmente na Inseminação Artificial cervical, onde a deposição seminal ocorre na entrada ou nos primeiros anéis do canal cervical. No presente estudo, a taxa de fertilidade não foi significativamente influenciada pela presença ou intensidade de refluxo ($P > 0,05$), registrando-se valores de 55,9% na ausência de refluxo, 53,1% no refluxo ligeiro e 63,6% no refluxo moderado. Embora numericamente o grupo com refluxo moderado tenha apresentado maior fertilidade, esta diferença não foi estatisticamente significativa, não permitindo estabelecer uma relação causal entre a intensidade do refluxo e o sucesso reprodutivo.

Estes resultados sugerem que a presença de refluxo não se traduz necessariamente em diminuição da eficiência reprodutiva, indicando que a fração de espermatozoides que efetivamente progride no trato genital feminino é suficiente para assegurar a fecundação. Embora alguns autores reportem que o refluxo pode reduzir a concentração espermática disponível no ambiente uterino e, conseqüentemente, comprometer a fertilidade (Leão, 2017; Francisco, 2018), os resultados obtidos no presente estudo sugerem que esse efeito pode ser compensado por uma

dose seminal adequada e por uma qualidade espermática suficiente para garantir transporte eficiente dos espermatozoides viáveis.

Do ponto de vista fisiológico, a Inseminação Artificial cervical é fortemente condicionada pela anatomia complexa do cérvix ovino, caracterizado por anéis e pregas que dificultam a deposição profunda do sémen. Segundo Valentim et al. (2016), esta estrutura pode atuar simultaneamente como barreira e como reservatório temporário de sémen, o que significa que o refluxo observado pode corresponder, em parte, ao excedente não retido no lúmen cervical inicial, sem implicar necessariamente perda funcional de espermatozoides viáveis.

Adicionalmente, o transporte espermático no trato reprodutivo feminino é um processo altamente seletivo, no qual apenas uma pequena fração dos espermatozoides inseminados atinge o oviduto. De acordo com Evans & Maxwell (1987), este processo depende sobretudo da motilidade progressiva e da integridade funcional dos espermatozoides, sendo a sua viabilidade mais determinante para a fecundação do que o volume total inseminado. Assim, quando a qualidade seminal é adequada, como nos casos sem comprometimento morfológico significativo, a perda associada ao refluxo pode ter impacto limitado na fertilidade final.

Deste modo, os resultados obtidos sugerem que, nas condições deste estudo, o refluxo cervical não constituiu um fator limitante da fertilidade, reforçando a importância da qualidade seminal e da técnica de deposição como determinantes mais relevantes do sucesso reprodutivo na Inseminação Artificial cervical.

4. CONCLUSÕES

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

- As ovelhas da raça Churra Galega Bragançana responderam adequadamente aos protocolos de controlo reprodutivo utilizados, permitindo a realização da inseminação artificial cervical com sémen refrigerado em condições de campo.

- O momento de administração da eCG não influenciou significativamente a fertilidade das ovelhas, sugerindo que ambas as estratégias avaliadas poderão ser utilizadas de forma eficaz nas condições deste estudo.

- A tosquia foi o principal fator associado às diferenças observadas na taxa de fertilidade após a inseminação artificial, sugerindo que esta prática de manejo poderá influenciar o desempenho reprodutivo das ovelhas.

- Os resultados obtidos indicam que a realização da tosquia em períodos próximos da inseminação artificial poderá constituir um fator de stresse e/ou induzir alterações fisiológicas capazes de comprometer o estabelecimento da gestação.

- A gestão adequada do momento da tosquia poderá constituir uma medida importante para otimizar a eficiência dos programas de inseminação artificial cervical com sémen refrigerado em ovinos.

- De forma global, os resultados reforçam a importância dos fatores de manejo no sucesso reprodutivo, evidenciando que práticas correntes, como a tosquia, podem influenciar a fertilidade das ovelhas da raça Churra Galega Bragançana.

- São necessários estudos complementares para aprofundar os mecanismos fisiológicos envolvidos na resposta das ovelhas à tosquia e para definir o intervalo mais adequado entre esta prática e a inseminação artificial.

Embora os resultados obtidos contribuam para o conhecimento sobre a influência do momento da tosquia e da administração de eCG na fertilidade de ovelhas Churra Galega Bragançana submetidas à inseminação artificial cervical com sémen refrigerado, importa

reconhecer algumas limitações do presente estudo. A dimensão da amostra, o delineamento experimental e os parâmetros avaliados poderão ter condicionado a robustez e a interpretação dos resultados. Assim, considera-se fundamental a realização de estudos futuros com um desenho experimental mais robusto, um maior número de animais e a inclusão de parâmetros fisiológicos que permitam uma avaliação mais abrangente da resposta dos animais aos diferentes tratamentos, nomeadamente a frequência cardíaca, a frequência respiratória, a concentração de cortisol e outros indicadores de bem-estar e de resposta ao stresse. A integração destes parâmetros permitirá compreender melhor os mecanismos fisiológicos envolvidos e contribuir para resultados mais consistentes, fiáveis e cientificamente sustentados.

III – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABECIA, J. A.; FORCADA, F.; GONZÁLEZ-BULNES, A. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, v.130, p.173–179, 2012.
- AISEN, E. G. Inseminación artificial de ovelas y cabras. São Paulo: Intermédica, 2004.
- ALVAREZ, M. et al. Artificial insemination in sheep: factors affecting fertility. *Theriogenology*, v.63, p.125–138, 2005.
- AMIDI, F. et al. The role of antioxidants in sperm freezing. *Cell and Tissue Banking*, v.17, p.745–756, 2016.
- ANDRABI, S. M. H. Factors affecting the quality of cryopreserved buffalo spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals*, v.44, p.552–569, 2009.
- ANDRABI, S. M. H.; ANWAR, M. Estrus synchronization protocols in goats. *Journal of Animal and Plant Sciences*, v.25, p.298–300, 2015.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE CRIADORES DE OVINOS DA RAÇA CHURRA GALEGA BRAGANÇANA. Informações técnicas e históricas da raça Churra Galega Bragançana. Bragança, Portugal.
- BAZER, F. W. et al. Uterine biology in livestock reproduction. *Biology of Reproduction*, v.104, p.1–15, 2021.
- BLESBOIS, E. Current status of semen cryopreservation in farm animals. *Animal*, v.15, p.100–109, 2023.
- CANDAPPA, I.; BARTLEWSKI, P. Cervical anatomy and artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, v.75, p.118–126, 2011.
- CATANI, R. Caracterização produtiva da raça Churra Galega Bragançana. Bragança: Escola Superior Agrária de Bragança, 2020.
- COLENBRANDER, B.; GADDELLA, B.; STOUT, T. The predictive value of semen analysis in livestock fertility. *Animal Reproduction Science*, v.105, p.185–197, 2008.
- CORREIA, T. M. et al. Timing of eCG administration and reproductive performance in sheep. *Small Ruminant Research*, v.110, p.30–35, 2013.
- CORREIA, T. M.; VALENTIM, R.; AZEVEDO, J.; MENDONÇA, A.; ALMEIDA, J.; SIMÕES, J.; FONTES, P.; MAURÍCIO, R.; CARDOSO, M. Antecipação da estação reprodutiva em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. In: CONGRESSO NACIONAL DE OVINOTECNIA Y CAPRINOTECNIA, 34., Espanha, 2009. p.403–407.
- CORTEEL, J. M. Artificial insemination in goats. *Animal Reproduction Science*, v.62, p.181–188, 2000.

CORTEEL, J. M.; LEBOEUF, B.; BARIL, G. Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Ruminant Research*, v.1, n.1, p.19–35, 1988.

CORTEZ, M. F. C. A. Antecipação da estação reprodutiva em caprinos: inseminação artificial. Bragança: Escola Superior Agrária de Bragança, 2012. Dissertação de Mestrado.

CSEH, S.; FAIGL, V.; AMIRIDIS, G. Semen processing and artificial insemination in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, v.130, p.187–192, 2012.

DARAMOLA, J. O. Effect of centrifugation on motility, sperm concentration and acrosome reaction in soybean and avocado seed milk extenders of cryopreserved goat spermatozoa. *Agricultura Tropica et Subtropica*, v.50, n.1, p.13–18, 2017.

DARAMOLA, J. O. Reproductive physiology of small ruminants under heat stress. *Small Ruminant Research*, v.150, p.53–60, 2017.

DARAMOLA, J. O. et al. Effects of pyridoxine supplementation or in combination with antioxidants on motility and acrosome reaction of goat spermatozoa during cryopreservation. *Small Ruminant Research*, v.131, p.113–117, 2015.

DE ROSSI, R. et al. Laparoscopic embryo transfer in sheep. *Theriogenology*, v.71, p.115–121, 2009.

DENDENA, M. W. Controle da atividade reprodutiva e inseminação artificial em ovelhas da raça Churra Galega Bragançana. Bragança: Escola Superior Agrária de Bragança, 2017. Dissertação de Mestrado.

DIEMER, T. et al. Influence of autogenous leucocytes and *Escherichia coli* on sperm motility parameters in vitro. *Andrologia*, v.35, p.100–105, 2003.

DIEMER, T. et al. Influence of *Escherichia coli* on motility parameters of human spermatozoa in vitro. *International Journal of Andrology*, v.19, p.271–277, 1996.

DIREÇÃO-GERAL DE ALIMENTAÇÃO E VETERINÁRIA. Raças autóctones portuguesas: Churra Galega Bragançana. Lisboa: Ministério da Agricultura, 2021.

DORADO, J.; RODRÍGUEZ, I.; HIDALGO, M. Cryopreservation of goat spermatozoa. *Theriogenology*, v.68, p.168–177, 2007.

DROBNIS, E. Z. Cold shock damage in sperm cells. *Journal of Experimental Zoology*, v.265, p.432–437, 1993.

DUNN, O. J. Multiple comparisons among means. *Journal of the American Statistical Association*, v.56, p.52–64, 1961.

EDDY, E. M. The spermatozoon. In: NEILL, J. D. *Physiology of Reproduction*. St. Louis: Elsevier, 2006.

EL-BATTAWY, K. A. Preservation of goat semen at 5 °C. *International Journal of Veterinary Science and Research*, v.5, p.35–38, 2019.

EMAMVERDI, M. Optimization of ram semen cryopreservation. *Reproduction in Domestic Animals*, v.48, p.899–904, 2013.

ENCARNAÇÃO, R. O. Estudo da reprodução em ovinos. Lisboa: Instituto Nacional de Investigação Agrária, 1992.

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

EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. Salamon's artificial insemination of sheep and goats. 2. ed. Sydney: Butterworths, 2000.

FAIGL, V. Artificial insemination in small ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, v.47, p.123–129, 2012.

FAHMY, M. H. Feeding and management of prolific sheep. CAB International, 1996.

FAIR, S.; LONERGAN, P. Understanding fertilization failure in livestock species. *Animal Reproduction Science*, v.134, p.1–8, 2012.

FONSECA, J. F. et al. Biotechnologies applied to reproduction in goats and sheep. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.41, p.130–135, 2017.

FREITAS, V. J. F.; BARIL, G.; SAUMANDE, J. Estrus synchronization in goats: the relationship between time of estrus and time of ovulation. *Theriogenology*, v.47, p.321–330, 1997.

GIBBONS, A.; CUETO, M.; PEREYRA, M. Artificial insemination in sheep. *Animal Reproduction Science*, v.62, p.189–203, 2000.

GILLAN, L.; EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. Flow cytometric evaluation of sperm parameters in relation to fertility potential. *Theriogenology*, v.63, p.445–457, 2004.

GONZÁLEZ-BULNES, A. Ovarian follicular dynamics in sheep. *Reproduction in Domestic Animals*, v.46, p.25–31, 2011.

GORDON, I. Controlled reproduction in sheep and goats. Wallingford: CAB International, 1997.

GRAHAM, J. K.; MOCÉ, E. Fertility evaluation of frozen–thawed semen. *Theriogenology*, v.64, p.492–504, 2005.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Reproduction in farm animals. 7. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Reproduction in farm animals. 8. ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2013.

HANSEN, P. J. Heat stress and reproduction in domestic animals. *Animal Reproduction*, v. 17, p. 1–11, 2020.

HOLT, W. V. Basic aspects of frozen storage of semen. *Animal Reproduction Science*, v. 62, p. 3–22, 2000.

HOLT, W. V.; MEDRANO, A. Membrane stability and sperm cryopreservation. *Theriogenology*, v. 53, p. 47–58, 2001.

JIMÉNEZ-RABADÁN, P. et al. Semen collection method and sperm cryoresistance in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, v. 167, p. 103–108, 2016.

KERSHAW, C. M. et al. The anatomy of the sheep cervix and its influence on cervical artificial insemination. *Theriogenology*, v. 64, p. 1225–1235, 2005.

KNIGHTS, M.; LEWIS, P. E. Synchronization of estrus in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, v. 42, p. 137–148, 1996.

LEBOEUF, B.; RESTALL, B.; SALAMON, S. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, v. 62, p. 113–141, 2000.

LÓPEZ-SEBASTIÁN, A.; GONZÁLEZ-BULNES, A. Seasonality and reproductive management in sheep. *Small Ruminant Research*, v. 48, p. 155–163, 2003.

LONERGAN, P.; FAIR, T. Progesterone and embryo development. *Reproduction*, v. 152, p. R67–R78, 2016.

MALPAUX, B. et al. Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. *Journal of Biological Rhythms*, v. 16, p. 336–347, 2001.

MAURÍCIO, R. et al. Reproductive management of Churra Galega Bragançana sheep. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 112, p. 45–52, 2017.

MAXWELL, W. M. C.; SALAMON, S. Artificial insemination of sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, v. 42, p. 115–131, 1993.

MAXWELL, W. M. C.; SALAMON, S. Liquid storage of ram semen: a review. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 5, p. 613–638, 1993.

MENCHACA, A. et al. Endocrine, luteal and follicular responses after the use of the Short-Term Protocol to synchronize ovulation in goats. *Animal Reproduction Science*, v. 102, p. 76–87, 2007.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 16, p. 403–413, 2004.

MENCHACA, A.; RUBIANES, E. Timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 29, p. 203–210, 2017.

MELLADO, M. Goat reproduction. Ames: Wiley-Blackwell, 2016.

MELLADO, M. et al. Factors affecting the reproductive performance of goats under intensive systems. *Small Ruminant Research*, v. 63, p. 110–118, 2006.

MOCÉ, E.; GRAHAM, J. K. In vitro evaluation of sperm quality. *Animal Reproduction Science*, v. 68, p. 193–208, 2001.

MORRELL, J. M. Artificial insemination: current and future trends. *Animal Reproduction Science*, v. 132, p. 1–8, 2011.

MURPHY, C. Impact of storage temperature on semen fertility. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 28, p. 1349–1356, 2016.

NOTTER, D. R. Genetic improvement of reproductive efficiency of sheep. *Animal Reproduction Science*, v. 130, p. 147–151, 2012.

NTEMKA, A. Advances in ram semen cryopreservation. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, v. 69, p. 911–924, 2018.

O'HARA, L. Storage temperature effects on ram sperm viability. *Theriogenology*, v. 73, p. 541–549, 2010.

OKAZAKI, T. Seminal plasma and cryopreservation effects. *Theriogenology*, v. 71, p. 491–498, 2009.

OMONTESE, B. Estrus synchronization in goats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, v. 5, p. 96–101, 2016.

PADILHA, R. Synchronization protocols in sheep. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 6, p. 538–543, 2011.

PAULA, N.; VALENTIM, R. Caracterização zootécnica da raça Churra Galega Bragançana. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, 2024.

PAULENZ, H. Cervical insemination with liquid semen in goats. *Animal Reproduction Science*, v. 86, p. 109–117, 2005.

PICCIÓNE, G.; CAOLA, G.; REFINETTI, R. Daily and estrous rhythmicity of body temperature in sheep. *Small Ruminant Research*, v. 45, p. 145–149, 2002.

PIERSON, J. Seasonal variation in ovulatory events. *Theriogenology*, v. 56, p. 759–769, 2001.

POLLI, V. A. et al. Reproductive efficiency in sheep under different management systems. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 49, e20190045, 2020.

PULIDO-RODRÍGUEZ, L. F. et al. Advances in reproductive biotechnology in small ruminants. *Theriogenology*, v. 210, p. 78–90, 2025.

RODRIGUES, S.; CADA VEZ, V.; TEIXEIRA, A. Breed characterization and productive traits of Churra Galega sheep. *Small Ruminant Research*, v. 62, p. 15–21, 2006.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A. The pattern and manipulation of ovarian follicular growth in goats. *Animal Reproduction Science*, v. 78, p. 271–287, 2003.

RUSSEL, A. J. F.; DONEY, J. M.; GUNN, R. G. Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal of Agricultural Science*, v. 72, n. 3, p. 451–454, 1969.

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

SANTOLARIA, P. Ram semen quality and fertility. *Animal Reproduction Science*, v. 145, p. 158–164, 2014.

SCARAMUZZI, R. J.; MARTIN, G. B. Nutrition and reproduction in sheep. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 20, p. 1–8, 2008.

SCARAMUZZI, R. J. et al. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentration of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis. *Reproduction Nutrition Development*, v. 46, p. 339–354, 2006.

SCOBIE, D. R. et al. Growth and carcass characteristics of sheep breeds. *Small Ruminant Research*, v. 95, p. 62–70, 2011.

SEIFI-JAMADI, A. Estradiol and oxytocin effects on AI efficiency. *Archives of Razi Institute*, v. 72, p. 33–41, 2017.

SHAMSUNDDIN, M. Characteristics of buck semen. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 35, p. 53–57, 2000.

SIEME, H.; OLDENHOF, H.; WOLKERS, W. Cryoprotectants for sperm preservation. *Animal Reproduction Science*, v. 169, p. 2–5, 2016.

SILVA, S. V.; GUERRA, M. M. Effects of cryopreservation on sperm cells. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 35, p. 370–384, 2011.

SIQUEIRA, A. P. Inseminação artificial em caprinos com sêmen resfriado. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2006.

SIQUEIRA, A. P. et al. Conception rate of goats inseminated with cooled semen. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 61, p. 66–71, 2009.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. Statistical methods. 7. ed. Ames: Iowa State University Press, 1980.

SOUZA, C. J. H.; CAMPBELL, B. K.; BAIRD, D. T. Follicular dynamics and ovulation rate in sheep. *Theriogenology*, v. 57, p. 1321–1330, 2002.

SPENCER, T. E. Uterine–conceptus interactions during early pregnancy. *Biology of Reproduction*, v. 102, p. 1–15, 2020.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. Principles and procedures of statistics. 2. ed. New York: McGraw-Hill, 1980.

THOMPSON, J. G. In vitro culture and embryo metabolism of cattle and sheep embryos. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 12, p. 43–49, 2000.

TITTO, E. A. L. et al. Heat stress in sheep: physiological and reproductive responses. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 45, p. 636–643, 2016.

VALENTIM, R. et al. Genetic resources and conservation of the Churra Galega Bragançana breed. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, 2022.

VALENTIM, R. et al. Reproductive performance of Churra Galega Bragançana sheep under natural breeding conditions. *Small Ruminant Research*, v. 178, p. 35–40, 2019.

VALENTIM, R. et al. Short-term estrus synchronization protocols in sheep. *Small Ruminant Research*, v. 212, 2022.

WATSON, P. F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, v. 60, p. 481–492, 2000.

WHEATON, J. E. et al. CIDR: a new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, v. 33, p. 127–141, 1993.

WILTBANK, M. C. Advances in reproductive physiology of livestock. *Theriogenology*, v. 182, p. 1–10, 2022.

ZARAZAGA, L. A. et al. Effects of season and nutrition on reproductive performance of sheep. *Small Ruminant Research*, v. 70, p. 75–82, 2007.

ZELEKE, M. et al. Effect of progestagen and PMSG on estrous synchronization and fertility in Dorper ewes. *Small Ruminant Research*, v. 52, p. 47–53, 2004.