



Fatores que interferem na transferência de embriões em ovinos

Factors that influence ewes embryo transfer

M.G.T. Gomes^{1,5}, F.C. Varago², M.R.J.M. Henry³, I. Borges³, T.L.T. Martins³, D.A. Ferreira¹

¹Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFT, Araguaína, TO, Brasil.

²Unifenas, Alfenas, MG, Brasil.

³Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

⁴Correspondência: mgianordoli@hotmail.com

Resumo

Vários fatores podem influenciar o sucesso na transferência de embriões em ovinos. Alguns estão relacionados à maximização do número de embriões produzidos por ovelha, principalmente relacionados à resposta superovulatória, tais como responsividade folicular ao FSH, falhas ligadas ao corpo lúteo e ordem de coletas, outras simplesmente associadas ao manejo, como estresse térmico, condição corporal e dieta. Na tentativa de aumentar o sucesso da técnica, tratamentos superovulatórios utilizando diferentes fontes de FSH estão sendo testados, bem como a utilização de agentes antiprostaglandínicos ou agentes luteotróficos. Além disso, parece também ser irrefutável a utilização da ultrassonografia para acompanhamento da dinâmica folicular antes do início do tratamento para superovulação. O ambiente no qual se encontram as ovelhas, tanto a doadora como a receptora, pode influenciar diretamente todo o processo, podendo provocar inatividade ovariana, falhas na dinâmica folicular, diminuição do número e da qualidade dos embriões produzidos, além de um desfavorável ambiente uterino à gestação.

Palavras-chave: ambiente, estresse, gonadotropinas.

Abstract

Several factors can influence the success of the transference of sheep embryos. Some are related to the maximization of the number of embryos produced per ewe, mainly the ones related to the superovulatory response in ewes, such as follicular responsiveness to FSH, failures linked to the corpus luteum and the order of sampling, other simply associated to handling, such as thermal stress, body condition and diet. In an attempt to increase the success of the technique, superovulatory treatments using different sources of FSH are being tested, as well as the use of antiprostaglandin agents or luteotropic agents. The use of ultrasound to monitor follicular growth prior to initiating treatment for superovulation also seems compelling. The environment in which the donor and receiving ewes are located can directly influence the entire process, being able to provoke ovarian inactivity, failures on the follicular dynamics, decrease in the number and quality of the embryos produced, and also one uterine environment unfavorable for pregnancy.

Keywords: environment, gonadotrophin, stress.

Introdução

A moderna produção pecuária deve ser fundamentada na exploração animal em condições de bem-estar, respeito ao ambiente e com alta produtividade, visando ao atendimento das necessidades humanas (Castro e Melo, 2001).

A ovinocultura apresenta atualmente um ciclo de crescimento mundial, o qual tem demonstrado maior intensificação nas últimas décadas, e ocorre principalmente em países em desenvolvimento, detentores dos maiores rebanhos (Fonseca, 2005). No Brasil, a região Sul, representada pelo estado do Rio Grande do Sul e o Nordeste brasileiro destacam-se como regiões onde a exploração ovina apresenta grande significado econômico. Entretanto, nos últimos anos, esse panorama vem sofrendo alterações, e a região Sudeste passa a assumir lugar de destaque na ovinocultura, com rebanhos significativos, explorando lã e principalmente carne. Mediante as perspectivas favoráveis, sobretudo para a produção de carne no Brasil, a exploração de ovinos tem merecido atenção especial (Silva Sobrinho, 2001).

A dieta tem influência direta na reprodução de ruminantes, portanto seus componentes nutricionais devem ser avaliados com cuidado, observando-se o gasto de energia dos animais. Os nutrientes dietéticos permitem ao animal um metabolismo adequado e, conseqüentemente, a expressão de todo seu potencial genético para a reprodução.

Os fatores climáticos existentes dentro dos sistemas de criação atuam de forma direta ou indireta sobre a produtividade dos ovinos. Dessa forma, o estabelecimento de um sistema de criação economicamente viável em

uma determinada região requer o conhecimento das variáveis climáticas, sua interação com os animais e as respostas comportamentais, fisiológicas e produtivas destes às condições ambientais locais (Barbosa, 1994), a fim de adequar o sistema de produção aos objetivos da atividade (Barbosa, 1994; Neiva, 2004).

A eficiência reprodutiva dos ovinos, tanto em fêmeas quanto em machos, é adversamente afetada pela hipertermia (Sawyer et al., 1979). Esta, nas fêmeas, implica deficiente desenvolvimento folicular e qualidade do oócito, fixação, implantação, bem como inadequado desenvolvimento embrionário e, conseqüentemente, fetal, abortos ou parições precoces e lactações incapazes de prover nutrição satisfatória para atender toda a demanda de seus descendentes (Pereira, 2005).

Nos últimos anos, tem-se aumentado a utilização de biotecnologias da reprodução, as quais, em atendimento das exigências nutricionais das diversas categorias dos animais do rebanho, incrementam a eficiência reprodutiva dos rebanhos. Tais técnicas se baseiam no simples manejo em estação de monta, à inseminação artificial, superovulação e transferência de embriões.

Assim, esta revisão tem como objetivo apresentar alguns fatores que podem influenciar em um programa de transferência de embriões em ovinos.

Superovulação (SO) em ovelhas

Os protocolos de superovulação (SO) na espécie ovina têm sido utilizados para aumentar o número de crias de fêmeas geneticamente superiores há mais de 50 anos (Cassida et al., 1944). A superovulação em ovelhas tem princípios semelhantes ao da cabra e da vaca, quando, em um ciclo estral fisiológico, de um a quatro folículos podem alcançar o diâmetro ovulatório (Evans, 2003). Estes folículos exercem sua dominância sobre os demais (subordinados), simplificada, pela privação ao hormônio folículo estimulante, o FSH (Ginther et al., 1996). Com base nesse conceito, um protocolo para a superovulação atua fornecendo grandes quantidades de FSH, induzindo a múltiplas ovulações.

Os primeiros tratamentos superovulatórios eram baseados no uso de gonadotrofina coriônica equina (eCG). Porém, a aplicação de altas doses de eCG resultava em respostas ovulatórias baixas e extremamente variáveis, além de induzir grande formação de cistos foliculares. Por esta razão, o eCG foi sendo substituído por extratos hipofisários, geralmente da espécie suína, que contém FSH (Armstrong e Evans, 1983). A desvantagem é que esta preparação também contém hormônio luteinizante (LH), além de outras substâncias não identificadas, que podem prejudicar a resposta ovulatória e a produção de embriões (Murphy et al., 1984).

O eCG apresenta longa meia-vida plasmática, cerca de 72 horas, associando-se à superestimulação dos ovários, o que resulta na liberação de grande quantidade de oócitos e com maior taxa de embriões degenerados ou de baixa qualidade. Esse hormônio é administrado em dose única, geralmente entre 1.000 a 1.500 UI, 48 horas antes da remoção da fonte de progesterona (Husein et al., 1998). O FSH possui meia-vida plasmática mais curta, próxima de 6 horas, e por isso requer duas aplicações diárias, a partir de 48 horas antes da retirada do implante de progesterona, sendo maiores as taxas de ovulação e fertilização, com melhor qualidade dos embriões recuperados frente ao eCG (Mobini et al., 2004).

Falhas na resposta à superovulação

Infelizmente, hoje ainda há uma grande variação na taxa de ovulação e no número de embriões viáveis recuperados entre os tratamentos e entre os animais dentro de um mesmo tratamento de superovulação, sendo um fator limitante na utilização destes programas e coleta de embriões em ovinos (Driancourt, 1991; Cognié, 1999; Baldassare, 2008). González-Bulnes et al. (2000) mencionam que este é um problema pertinente à ordem de 20 a 30% das fêmeas tratadas.

Esta variabilidade tem sido associada a fatores extrínsecos e intrínsecos (González-Bulnes et al., 2003). Entre os fatores extrínsecos que têm maior influência na resposta superovulatória encontram-se: origem e pureza da gonadotrofina utilizada e protocolo de administração dessa gonadotrofina, (Baril et al., 1996), bem como a possibilidade do binômio aumento da temperatura ambiente e da umidade relativa do ar (Varago, 2009). Com relação aos fatores intrínsecos, destacam-se: raça, idade, nutrição, *status* reprodutivo das doadoras (Santos et al., 2009), deficiência ou inexistência do pico de LH (González-Bulnes et al., 2003) ou a presença de folículos não responsivos, durante a regulação dos receptores de LH nas células da teca e da granulosa (Boland et al., 1991; González-Bulnes et al., 2003). Mais recentemente, ficou constatado que a população folicular presente nos ovários no início do tratamento hormonal é um fator que tem grande participação na resposta à superovulação (González-Bulnes et al., 2005; Veiga-Lopes et al., 2005).

Falha na responsividade folicular ao FSH

Os protocolos atuais de superovulação baseiam-se na reposição do FSH endógeno por FSH exógeno. No entanto, o FSH exógeno atua apenas nos folículos que já iniciaram o seu desenvolvimento, ou seja, folículos responsivos a gonadotrofinas ou folículos antrais com diâmetro entre 2 e 3 mm. Existe, ainda, a possibilidade de

o número de embriões, bem como a viabilidade deles, estar diretamente relacionado a uma categoria ainda mais limitada de folículos de 3 mm de diâmetro, enquanto folículos de 2 mm de diâmetro estariam relacionados à alta taxa de degeneração, o que pode indicar competência oocitária comprometida (Veiga-Lopes et al., 2005). Por outro lado, a presença de folículos dominantes (≥ 6 mm de diâmetro) diminui tanto o número quanto a viabilidade dos embriões obtidos (González-Bulnes et al., 2002).

Estudos realizados até o momento evidenciam cada vez mais que o sucesso na recuperação embrionária após o processo de superovulação em ovelhas está diretamente ligado ao *status* ovariano no início do tratamento com FSH (González-Bulnes et al., 2000, 2004 e 2005). Ou seja, a quantidade de folículos que podem ser estimulados pelo FSH depende da quantidade de folículos presentes no ovário no início da superovulação. No entanto, com a utilização dos protocolos convencionais, a população folicular existente no início do tratamento com gonadotrofina é desconhecida. Por essa razão, o resultado para um mesmo tratamento pode variar entre zero e 30 embriões transferíveis (Baldassare, 2008).

Outro entrave nos protocolos de superovulação é que a ação do FSH não faz diferenciação entre os folículos sadios e aqueles que já entraram em regressão, estimulando, assim, o crescimento dos dois tipos de folículos. Como consequência, o folículo em atresia retoma seu crescimento e pode chegar à ovulação. Porém, o oócito deste folículo não é mais viável, pois já iniciou o processo de apoptose (Rubianes et al., 1997). Neste caso, após a ovulação, o oócito não será fertilizado ou, caso seja, resultará num embrião não viável, com degeneração precoce (Baldassare, 2008). Este problema também pode ser minimizado com a utilização de protocolos “dia 0” (Fonseca, 2005; Rubianes e Menchaca, 2006).

Dessa forma, o ideal seria iniciar as aplicações de FSH concomitantemente ao surgimento da onda folicular. Assim sendo, se for considerado que em cada ciclo podem ocorrer várias ondas e que as intermediárias apresentam surgimentos irregulares, sobrepondo-se à anterior, poder-se-ia aproveitar apenas a primeira onda de crescimento folicular. Nesse sentido, o acompanhamento ultrassonográfico para determinar a emergência da primeira onda folicular e, portanto o dia “0” da onda, tem sido associado ao primeiro dia de aplicação de FSH em pesquisas científicas (Fonseca, 2006; Rubianes e Menchaca, 2006), enquanto os protocolos convencionais utilizam como base apenas a sincronização de cio e duração do ciclo estral (Fonseca et al., 2007).

A sincronização de cio é mais recomendada que a simples observação do estro quando há interesse na utilização do protocolo de superovulação, com melhores resultados na colheita de embriões. Normalmente, utiliza-se progesterona exógena ou, mais ainda, progestágenos impregnados em dispositivos vaginais ou implantes auriculares (Fonseca et al., 2007), por um período compreendido entre sete a 15 dias, com média entre 10 e 12 dias. Quanto maior a permanência de um dispositivo vaginal, maior a incidência de vaginites e perdas embrionárias, desejando-se hoje menor tempo possível de permanência do implante (Rubianes e Menchaca, 2006; Arashiro et al., 2009).

Falhas ligadas ao corpo lúteo (CL)

Além do efeito da presença de folículos grandes, há também interferência pela presença ou ausência de corpo lúteo no início do tratamento com FSH (González-Bulnes et al., 2002). A ausência de corpo lúteo exerce efeito negativo sobre a viabilidade dos embriões por aumentar a taxa de degeneração. Existe ainda uma interação entre a ausência de corpo lúteo e a presença de grandes folículos no ovário, sendo maior o efeito negativo da dominância sobre a taxa de recuperação e a viabilidade embrionária na ausência de corpo lúteo (Greve et al., 1995).

Os efeitos relacionados à presença do corpo lúteo podem ser relacionados a alterações na competência de desenvolvimento dos oócitos, no processo de fecundação e no desenvolvimento inicial do embrião (Greve et al., 1995), ou a mudanças no ambiente uterino, o que expõe os embriões a ambiente hostil e sem capacidade para recebê-los (Barnes, 2000). No entanto, Veiga-Lopes et al. (2005) demonstraram que a influência do corpo lúteo é principalmente relacionada às questões de ambiente uterino e à população folicular, portanto os oócitos também são diretamente afetados.

Luteólise

O principal mecanismo no processo para que ocorra a luteólise é a emissão de secreções pulsáteis de prostaglandina 2 α (PGF2 α) no endométrio que provocam a regressão de CL. Nos ovinos há um *feedback* positivo que estimula a secreção pulsátil de PGF2 α , tendo a ocitocina como mediador central nesse processo (McCracken et al., 1984). A ocitocina, proveniente da neuro-hipófise, estimula a secreção de PGF2 α no endométrio. A PGF2 α estimula a secreção de ocitocina no CL, e a ocitocina luteínica, por sua vez, estimula ainda mais a produção de PGF2 α no útero, caracterizando o processo de *feedback* positivo. Esta luteólise se inicia como resultado da elevação e ativação de receptores de estradiol (E2), que induzem um aumento no número de receptores de ocitocina no endométrio, desencadeando o todo mecanismo.

McCracken et al. (1984) propuseram uma série de eventos que têm sido responsáveis pela luteólise:

1. a diminuição inicial de progesterona permitiria que o 17- β -estradiol estimulasse a formação de receptores uterinos para a ocitocina;

2. os níveis de ocitocina, oriundos do ovário, interagiriam com esses receptores, resultando na síntese e secreção de PGF2 α ;
3. essa prostaglandina atuaria no CL, reduzindo os níveis de progesterona e liberando quantidades crescentes de ocitocina ovariana;
4. a ocitocina, por sua vez, reforçaria a liberação de PGF2 α pelo útero, em um mecanismo de *feedback* positivo;
5. a concentração plasmática de progesterona cairia, e a ocitocina luteal diminuiria como resultado da ação da PGF2 α pelo útero.

Regressão luteal prematura

A regressão luteal precoce é muito comum em ovelhas (Gordon, 1997), todavia, até hoje, este fato parece ser ignorado pelos pesquisadores e, principalmente, pelos técnicos, uma vez que os protocolos mais utilizados para superovulação não recomendam a utilização de agentes antiluteolíticos (anti-inflamatórios) ou luteotróficos (Fonseca et al., 2007), como a prolactina ou, segundo Sales et al. (2002), progestágenos exógenos. Este fenômeno parece estar associado a elevadas concentrações de estrógenos circulantes durante a fase luteal inicial (Fonseca et al., 2007).

O aumento dos níveis de secreção de progesterona produzido pelo corpo lúteo promove a inibição dos níveis de receptores de ocitocina pouco antes da luteólise. Este processo se inicia durante a fase lútea com a diminuição de receptores de ocitocina, que não estimula a ação da PGF2 α luteolítica (Vallet et al., 1990). Os ciclos estrais das ovelhas são caracterizados por altos níveis pré-ovulatórios de secreção de estradiol resultando na “down regulation” dos receptores de ocitocina pelo útero, revelando a associação entre altas concentrações de estradiol e a luteólise prematura, levando à perda dos embriões (Vallet et al., 1990).

A regressão luteal precoce é evidente em aproximadamente quatro dias após o estro, mas a concentração circulante de progesterona já se apresenta abaixo do desejável desde o terceiro dia. Este tipo precoce de regressão pode variar entre 6 a 75% dos animais tratados, e como principal consequência, é observada diminuição na taxa de recuperação e qualidade dos embriões recuperados (Lopes Júnior et al., 2006).

Protocolos de superovulação os quais utilizam o eCG ao invés do FSH têm apresentado maior ocorrência de regressão luteal prematura (Armstrong et al., 1983, 1987; Pendleton et al., 1992). Tratamentos superovulatórios utilizando ECG, na maioria das vezes, estão associados com a presença de um grande número de folículos anovulatórios no momento da coleta de embriões (González et al., 1994) devido à longa meia vida do eCG que provoca o desenvolvimento de uma nova onda folicular (Murphy e Martinuk, 1991). Essa segunda onda provoca um aumento nos níveis de estrógeno que afetam a qualidade dos embriões colhidos (Schiewe et al., 1991).

Tratamentos superovulatórios com gonadotrofina da menopausa humana (hMG) devido a sua meia vida curta, levando a um rápido e homogêneo aumento de progesterona durante a fase luteal concomitante ao decréscimo do estradiol plasmático, produz um maior efeito sincronizador sobre a manutenção folicular (Lauria et al., 1982; Traldi et al., 1996).

Ordem de coletas

Além destes fatores, o sucesso de procedimentos repetidos de superovulação e coleta de embriões não depende apenas da taxa de ovulação alcançada, mas também da taxa de recuperação após sucessivas coletas. A maioria dos estudos é realizada por meio do método cirúrgico de coleta, o que resulta em declínio significativo da taxa de recuperação embrionária e também do número de ovelhas coletadas, devido à formação de tecido de cicatrização e adesões pós-cirúrgicas (Torres e Sevelle, 1987; Bari et al., 2001). No entanto, dados de literatura analisando o efeito das condições ambientais e ordem de coleta sobre a resposta superovulatória, nas nossas condições e em raças não sazonais, não foram encontrados.

Na espécie ovina, existe um crescimento contínuo de folículos primordiais durante cada ciclo estral e aproximadamente 40 dias são necessários para que os folículos evoluam do momento em que formam o antro até o estado ovulatório (Bari et al., 2001). Outro fator de relevância que foi demonstrado é que existem entre 20 e 30 folículos responsivos à gonadotrofina em cada ovário durante um ciclo estral normal na ovelha (Webb et al., 1998).

Considerando-se estes fatos, tratamentos superovulatórios repetidos em intervalos curtos de dois meses, teoricamente, não resultariam em resposta reduzida e poderiam ser aplicados sem queda na eficiência dos programas de transferência de embrião (TE). A menor taxa de recuperação embrionária nas segundas e terceiras coletas observada no grupo experimental campo já foi reportada na literatura (Torres e Sevelle, 1987; Bari et al., 2001). Estudos nos quais dois, três ou até cinco protocolos foram induzidos em uma mesma estação reprodutiva, foi observada redução significativa na taxa de recuperação embrionária (Torres e Sevelle, 1987; Andrioli et al., 1999). Estes autores acreditam que este fato esteja ligado à grande formação de aderências que as técnicas de laparotomia ou hemilaparoscopia induzem no aparelho reprodutivo das fêmeas, o que pode levar à diminuição da



possibilidade de captação e transporte dos oócitos.

Além disso, foi reportado na literatura que, conforme aumenta a resposta ao protocolo superovulatório, ocorre uma diminuição na recuperação embrionária, sendo que esta fica bastante prejudicada quando existem mais de 10 corpos lúteos por ovário (Andrioli et al., 1999). No entanto, para Varago (2009), a resposta superovulatória não foi diferente entre as três coletas consecutivas realizadas, atribuindo menor recuperação embrionária ao fato do surgimento de aderências. Este fato pode estar relacionado à menor recuperação de embriões viáveis e à maior recuperação de oócitos na terceira coleta, uma vez que a existência de aderências poderia comprometer o transporte dos oócitos e dos espermatozoides pelo aparelho genital feminino.

Estresse térmico e superovulação

As condições ambientais exercem forte influência nos seres vivos, afetando diretamente suas funções orgânicas envolvidas na manutenção do equilíbrio interno do organismo (homeostasia). Dentre os principais fatores ambientais climáticos que afetam os animais estão: temperatura do ar, umidade relativa do ar, radiação solar e ventos (Pereira, 2005).

Em condições de estresse, os animais acionam mecanismos adaptativos que implicam mudanças na taxa metabólica, temperatura corporal, frequências cardíacas e respiratórias, alterações hormonais e metabólitos sanguíneos. O aumento de um grau ou mais na temperatura corporal interna resulta em um grande dispêndio de energia para manutenção da homeostase. Neste processo regulatório, as funções menos vitais (produção e reprodução) são comprometidas (Hansen et al., 2001).

A resposta do animal contra o agente estressor ocorre por ativação do sistema nervoso autônomo, a partir de uma resposta rápida, conhecida como reação de luta ou fuga. Tal resposta ocorre quando os estímulos externos e internos são conduzidos via sistema nervoso central, por neurotransmissores até as células neurosecretoras do hipotálamo, onde é secretado o hormônio liberador de corticotrofina (CRH). Esse hormônio é transportado pelos capilares do sistema porta-hipofisário até os lóbulos anteriores da hipófise, estimulando a síntese e a liberação de adrenocorticotrófico (ACTH), que, por sua vez, tem a função de estimular a liberação de glicocorticoides (cortisol e cortisona) pelo córtex adrenal e catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) pela medula adrenal (Encarnação, 1997; Moberg, 2000; Pereira, 2005).

Elevadas concentrações de corticosteroides produzidos durante o estresse influenciam diretamente a síntese e a secreção de esteroides gonadais, podendo interromper o desenvolvimento dos gametas nas distintas espécies de animais domésticos. No ovário, há evidências *in vitro* de que tanto os corticosteroides naturais quanto os sintéticos são significativamente capazes de alterar o estímulo de FSH na diferenciação das células da granulosa, de forma que esteroides da adrenal suprimam a expressão dos receptores de LH nas células da granulosa e diminuem a secreção de estrógeno pela inibição da atividade aromatase (Moberg, 1987).

Animais submetidos a condições estressantes durante o período de desenvolvimento folicular, como transporte, por exemplo (Dobson e Smith, 1995), temperatura e umidade elevadas (Wilson et al., 1998a, b), podem apresentar comprometimento na formação do CL, levando à disfunção luteal. Como consequência, uma produção anormal de progesterona (P4) e vida média anormal do CL são manifestadas, resultando em infertilidade, em função das consideráveis taxas de perda embrionária precoce (Foley, 1996). Em ovelhas, o diâmetro máximo é alcançado de seis a nove dias após a ovulação, e a regressão inicia-se entre 13 e 16 dias (Jablonka-Shariff et al., 1993).

Trabalhando com ovelhas estressadas pelo calor (câmara climática a 40°C das 10 às 16 h, todos os dias, durante quatro semanas) e controle (condições ambientais), Naqvi et al. (2004) verificaram duração de estro menor (31,7 h) para as ovelhas estressadas, quando comparadas com a duração de estro do grupo controle (37,7 h). Neste mesmo trabalho, os efeitos sobre a ovulação e a resposta ovariana das ovelhas estressadas pelo calor foram mínimos. Já a influência do estresse térmico sobre a qualidade dos embriões produzidos por essas ovelhas foi evidente; as incidências de anormalidades embrionárias apresentadas pelas ovelhas estressadas pelo calor foram muito altas, comparadas com as ovelhas mantidas na câmara climatizada.

Falhas na ovulação e no anestro têm se mostrado como um obstáculo comum para produção de animais em regiões com temperaturas elevadas. A redução no consumo de matéria seca é uma estratégia do organismo, na tentativa de declinar a taxa metabólica e manter o equilíbrio entre o calor interno e o do ambiente externo. Essa alteração alimentar conduz à condição de balanço energético negativo, que tem como efeito o decréscimo nas concentrações de insulina, glicose, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) e aumento nas concentrações do hormônio de crescimento (GH) e ácidos graxos não esterificados (Lucy et al., 1992).

Algumas respostas metabólicas atuam no eixo hipotálamo-hipófise-gônada mediando os efeitos inibitórios sobre a dinâmica ovariana e, consequentemente, sobre a competência oocitária (Wiltbank et al., 2006). A insulina, a glicose e o IGF-1 são estimuladores do crescimento folicular e têm efeitos benéficos sobre a qualidade oocitária, além de estarem envolvidos tanto no metabolismo intraovariano como na regulação hormonal, principalmente na modulação dos pulsos de LH e ovulação (Rabiee et al., 1997).

Em outras espécies, efeitos semelhantes são observados, mesmo em animais mais adaptados a regiões tropicais. Gama Filho et al. (2007), utilizando o protocolo de superovulação em vacas Guzará em condições de



estresse pelo calor, observaram que os intervalos estrais e ovulatórios foram de maior duração durante o período de temperaturas mais elevadas, possivelmente por comprometimento do desenvolvimento folicular. A taxa e a duração de crescimento folicular se mostraram sensíveis às variações sazonais, influenciando o desenvolvimento da dominância folicular durante o período pré-ovulatório. Ambientes com temperatura e umidade elevadas comprometem a viabilidade dos embriões e aumentam o número de oócitos não fertilizados.

Influência da condição corporal e da dieta na atividade folicular

A condição corporal é avaliada pelo escore corporal (ECC), melhor indicador para o desempenho reprodutivo de qualquer animal. Com base no valor obtido pela avaliação do ECC, pode-se prever o *status* metabólico do animal, bem como se este pode estar apto, ou não, a desempenhar adequadamente sua habilidade reprodutiva.

Segundo Zurek et al. (1995), o declínio do ECC é o principal fator da inibição da atividade ovariana. Para manter saudável e eficiente a capacidade reprodutiva, as fêmeas necessitam possuir adequada quantidade de reserva corporal, tecido adiposo e muscular.

A secreção hipotalâmica de GnRH, bem como o controle ovariano sobre o *feedback* hormonal e a secreção de gonadotrofinas, pode ser alterada dada à influência nutricional, podendo alterar o nível e o tempo de duração da exposição do folículo gonadotrofina dependente ao FSH (Scaramuzzi, 1988). Pode resultar também em inadequada frequência dos pulsos de LH, resultando em alterações no crescimento das ondas foliculares e no tamanho dos folículos dominantes, bem como em baixas taxas de ovulação também pode ser observado (Yaakub et al., 1997). Sugere-se que tais fatos sejam influenciados especificamente por alguns nutrientes, tais como a glicose e os aminoácidos, e alguns metabólitos, como insulina, GH e IGFs, influenciam no (Scaramuzzi, 1988).

Ovelhas em restrição alimentar imediatamente antes do período ovulatório, ou por seis meses antes da ovulação, apresentaram menor taxa de ovulação e menor tamanho de folículos ovulatórios (Fletcher, 1974, citado por Nottle et al., 1997; Nottle et al., 1997). No entanto, ovelhas em restrição alimentar suplementadas com dietas energéticas e proteicas num curto período antes da ovulação, responderam com melhor taxa de ovulação que as não suplementadas (Abecia et al., 1997; Nottle et al., 1997).

Estudos mostram que a redução na taxa de ovulação pode ser prevenida pela suplementação nutricional (*flushing*) no período de 10 dias antes da monta (Robinson et al., 2006). Segundo Gil (2003), o efeito benéfico do *flushing* pode ser observado em períodos curtos de fornecimento da suplementação, em até oito a quatro dias antes da ovulação, coincidindo com a emergência da onda folicular ovulatória.

Ovelhas em moderada condição corporal, recebendo *flushing* durante algumas semanas antes da ovulação e monta, apresentam maiores taxas de ovulação e gestação que ovelhas em mesma condição corporal alimentadas com níveis energéticos de manutenção. Ressalta-se ainda que ovelhas em condição corporal superior apresentaram maior número de folículos dominantes que animais em inferior condição corporal e recebendo a mesma dieta (Rhind e McNeilly, 1986).

Rhind e McNeilly (1998), estudando dois grupos de ovelhas da raça Scottish Blackface em moderada condição corporal, porém com uma diferença no escore corporal de 0,5, em escala de 0 – 5, observaram que os animais com menor escore corporal, mas recebendo *flushing* três semanas antes do período ovulatório, apresentaram maior número de folículos no ovário e mesmo número de folículos dominantes (> 2,5 mm) que os animais do outro grupo. Todavia, os animais com escore corporal superior apresentaram folículos dominantes com maior capacidade esteroidogênica, ou seja, maior produção de estrógeno.

Boukhliq et al. (1996) afirmaram que a nutrição induzindo o aumento de peso em ovelhas refletiu no aumento do volume do fluido folicular e na concentração ovariana de estradiol e inibina. E Rae et al. (2002) relataram que ovelhas em maior escore corporal apresentam maior taxa de ovulação que animais em menor valor.

Influência da superovulação sobre o crescimento uterino e fetal

Para um crescimento e conseqüente desenvolvimento adequado do tecido uterino, várias alterações e mudanças bioquímicas ocorrem por influências do estrógeno secretado no período pré-ovulatório e a progesterona contínua no período pós-ovulatório (Mulholland et al., 1994, citados por Manalu e Sumaryadi, 1998), além de outros hormônios e fatores de crescimento secretados pelo corpo lúteo durante a gestação. O crescimento e desenvolvimento fetal são influenciados diretamente pelo crescimento e desenvolvimento uterino e subseqüentemente placentário, além de nutrientes e o perfil endócrino materno (Robinson et al., 1999).

O perfil endócrino da gestante antes da implantação embrionária é ditado pelo corpo lúteo, representado pela progesterona, que desempenha um papel fundamental no início de uma cascata de eventos uterinos, com secreção de substâncias e crescimento celular (Mulholland et al., 1994, citado por Manalu e Sumaryadi, 1998).

Ao realizar o processo de superovulação, em decorrência às múltiplas ovulações, um número maior de corpos lúteos será formado e maior será a secreção de progesterona. Manalu e Sumaryadi (1998) encontraram um aumento no número de corpos lúteos e 354 e 84% (20.8 e 12.8 ng/ml) na concentração de progesterona em



ovelhas super ovuladas, nos períodos de sete e 15 semanas de gestação, respectivamente, quando comparadas a ovelhas não super ovuladas no mesmo período (4.6 e 6.9 ng/ml). Os mesmos autores ainda observaram um maior número de fetos por gestação, bem como maior peso uterino e peso de fetos por ovelha, representando ganhos produtivos. Estes autores concluem que folículos que seriam dispensados ao entrar em atresia podem ser aproveitados e estimulados, tornando-se corpos lúteos, apresentando função secretora e auxiliando na gestação e crescimento pré-natal.

Baril et al. (1989) já mencionavam que o sucesso de um programa de transferência de embriões encontra-se na dependência de vários fatores como a qualidade e número de embriões a serem transferidos, o local de deposição dos embriões, o tempo transcorrido entre a colheita ou a descongelação e a transferência dos embriões, a sincronização do estágio fisiológico entre a doadora e a receptora e a resposta ovulatória da receptora.

Ainda, segundo Thibier e Nibart (1992) a condição das receptoras à transferência dos embriões, principalmente, no tocante à nutrição e saúde, é responsável por 50% da porcentagem de prenhez, enquanto os 50% restante são diretamente dependentes da qualidade embrionária. Por outro lado, Armstrong et al. (1983) descrevem que a sobrevivência dos embriões transferidos está diretamente relacionada a qualidade da resposta da ovulação das receptoras, obtendo-se maiores porcentagem de sobrevivência na presença de dois (63,1) e três (75,0) corpos lúteos quando comparado com apenas um (51,6).

Com o objetivo de aumentar a taxa de ovulação, Dhindsa et al. (1971) usaram a gonadotrofina coriônica equina (eCG) em cabras pós-tratamento com os progestágenos para a sincronização do estro. Em ovinos, o primeiro relato encontrado na literatura sobre o uso da superovulação em receptoras de embrião foi realizado por Cognié et al. (1986), observando aumento na taxa de concepção.

No Brasil, Silva et al. (2008) utilizaram eCG na sincronização de cio em receptoras de embrião ovino, mas não mencionaram o efeito do uso sobre a taxa de concepção, no entanto deixam claro a necessidade do uso para melhoria da técnica. Na França, Rizzo et al. (2009) utilizaram 250 UI de eCG em receptoras, obtendo média 2,25 corpos lúteos por ovelha tratada e representando maior taxa de concepção quando comparada a ovelhas apresentando 1,25 corpos lúteos.

Em vacas, no Brasil, tal protocolo já começa a ser utilizado também em receptoras de embrião, Baruselli et al. (2000) obtiveram maior número de corpos lúteos, bem como maior concentração circulante e taxa de concepção em vacas da raça Gir, receptoras de embrião, ao utilizarem eCG para estimular a superovulação.

Considerações finais

A superovulação associada à transferência de embriões em ovinos é um procedimento que pode maximizar o número de embriões coletados das doadoras, no entanto o técnico deve estar ciente das peculiaridades do processo a fim de se alcançar benefícios com seu uso.

Dentre os hormônios utilizados no protocolo para superovulação em ovinos a fonte de FSH parece ser atualmente a que apresenta resultados mais variáveis.

A utilização da ultrassonografia para determinação da emergência da primeira onda folicular pode aumentar a resposta da técnica de superovulação em ovinos.

Adequado manejo deve ser empregado tanto para doadoras de embriões, quanto para as receptoras, favorecendo adequada alimentação, sem restrições ou excessos, possibilitando escore da condição corporal entre 2,5 a 3,5, além de conforto térmico.

O uso do protocolo de superovulação em receptoras de embrião ovino pode ser uma alternativa para aumento na taxa de prenhez, uma vez que com o aumento do número de corpos lúteos, conseqüentemente com maior concentração circulante de progesterona, pode favorecer a implantação e o desenvolvimento embrionário.

Referências

- Abecia JA, Lozano JM, Forcada F, Zarazaga L.** Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day eight of pregnancy in Rasa Aragonesa ewes. *Anim Reprod Sci*, v.48, p.209-218, 1997.
- Andrioli A, Simplicio AA, Soares AT, Visintin JA.** Eficiência da recuperação de embriões e os efeitos de consecutivas colheitas sobre o aparelho reprodutor de doadoras da espécie caprina. *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.36, p.136-143, 1999.
- Arashiro EKN, Fonseca JF, Henry M, Figueira LM, Magão JVP, Oliveira DR, Esteves LV, Brandão FZ.** Efeito do protocolo de sincronização da primeira onda folicular sobre a resposta a superovulação em ovelhas da raça Santa Inês. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 18, 2009. Belo Horizonte, MG. Anais... Belo Horizonte: CBRA, 2009. Resumo. CD-ROM.
- Armstrong DT, Evans GM.** Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, v.19, p.31-42, 1983.
- Armstrong DT, Kiehm DJ, Warnes GM, Seamark RF.** Corpus luteum (C.L.) failure and embryonic loss in



- superovulated goats. *Theriogenology*, v.27, p.207, 1987. Abstract.
- Baldassare H.** Coleta, conservação e transferência de embrião. In: Aisen EG. Reprodução caprina e ovina. São Paulo: MedVet, 2008. 203p.
- Boland MP, Goulding D, Roche JF.** Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. *Theriogenology*, v.35, p.5-17, 1991.
- Barbosa OR.** Utilização do índice de conforto térmico em zoneamento bioclimático da ovinocultura. 1994. 76f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 1994.
- Bari F, Khalid M, Wolf B, Haresign W, Murray TMA, Merrell B.** The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. *Theriogenology*, v.56, p.147-155, 2001.
- Baril B, Casamitjana P, Perrin J, Vallet JC.** Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. *Zuchthygiene*, v.24, p.101-115, 1989.
- Baril G, Pougard JL, Freitas VJF, Leboeuf B, Saumande J.** A new method for controlling the precise time of occurrence of the preovulatory gonadotrophin surge in superovulated goats. *Theriogenology*, v.45, p.697-706, 1996.
- Barnes FL.** The effects of early uterine environment on the subsequent development of embryos and fetus. *Theriogenology*, v.53, p.649-658, 2000.
- Baruselli PS, Marques MO, Madureira EH, Bó GA, Costa Neto WP, Grandinetti RR.** Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. *Arq Fac Vet UFRGS*, v.28, p.218, 2000.
- Boukhliq R, Adams NR, Martin GB.** Effect of nutrition on the balance of production of ovarian and pituitary hormones in ewes. *Anim Reprod Sci*, v.45, p.59-70, 1996.
- Cassida LE, Warwick EJ, Meyer RA.** Survival of multiple pregnancies induced in the ewe following treatment with pituitary gonadotrophins. *J Anim Sci*, v.3, p.22-28, 1944.
- Castro RS, Melo LEH.** CAEV MAEDI-VISNA: importância na saúde e na produtividade de caprinos e ovinos e a necessidade de controle no nordeste brasileiro. *Ciênc Vet Tróp*, v.3/4, p.315-320, 2001.
- Cognié Y.** State of Art in sheep-goat embryo transfer. *Theriogenology*, v.51, p.105-116, 1999.
- Cognié Y, Chupin D, Saumande J.** The effect of modifying the FSH/LH ratio during the superovulatory treatment in ewes. *Theriogenology*, v.25, p.148, 1986. Abstract.
- Dhindsa DS, Hoversland AS, Metcalfe J.** Reproductive performance in goats treated with progestogen impregnated sponges and gonadotrophins. *J Anim Sci*, v.32, p.301-305, 1971.
- Dobson H, Smith RF.** Stress and reproduction in farm animals. *J Reprod Fertil Suppl*, n.49, p.451-461, 1995.
- Driancourt MA, Webb R, Fry RC.** Does follicular dominance occur in ewes. *J Reprod Fertil*, v.93, p.63-70, 1991.
- Encarnação EO.** Estresse e produção animal. Campo Grande: Embrapa-CNPGC, 1997. 32p.
- Evans ACO.** Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim Reprod Sci*, v.78, p.289-306, 2003.
- Foley GL.** Pathology of the bovine corpus luteum of cows. *Theriogenology*, v.46, p.1413-1428, 1996.
- Fonseca JF.** Biotecnologias da reprodução em ovinos e caprinos. Sobral: Embrapa Caprinos, 2006. (Documentos, 64).
- Fonseca JF.** Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, 2005, Goiânia: Anais... Belo Horizonte: CBRA, 2005. p.16-25. CD-ROM.
- Fonseca JF, Souza JMG, Bruschi JH.** Sincronização de estro e superovulação em ovinos e caprinos. In: Simpósio de Caprinos e Ovinos, 2, 2007, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: Escola de Veterinária/UFMG, 2007. Resumo.
- Gama Filho RV, Fonseca FA, Ueno VG, Fontes RS, Quirino CR, Ramos JLG.** Sazonalidade na dinâmica folicular ovariana e produção embrionária em novilhas da raça Guzerá. *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.44, p.422-427, 2007
- Gil CV.** Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe. 2003. 55f. Thesis (Veterinary Medicine Doctoral) - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suécia, 2003.
- Ginther OJ, Wiltbank MC, Friche PM, Gibbons JR, Kot K.** Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*, v.55, p.187-1194. 1996.
- Gonzales A, Wang H, Carruthers TD.** Increased ovulations rates in PMSG-stimulated beef heifers treated with a monoclonal PMSG antibody. *Theriogenology*, v.41, p.1631-1642, 1994.
- Gonzales-Bulnes A, Baird DT, Campbell BK, Cocero MJ, Garcia-Garcia RM, Inskoop EK, Lopez-Sebastian A, McNeilly AS, Santiago-Moreno J, Souza CJ, Veiga-Lopez A.** Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats. *Reprod Fertil Dev*, v.16, p.421-435, 2004.
- Gonzalez-Bulnes A, Berlinguer F, Cocero MJ, Garcia-Garcia RM, Leoni G, Naitana S, Rosati I, Succu S, Veiga-Lopez A.** Induction of the presence of corpus luteum during superovulatory treatments enhances in vivo



- and in vitro blastocysts output in sheep. *Theriogenology*, v.64, p.1392-1403, 2005.
- Gonzales-Bulnes A, Garcia-Garcia RM, Santiago-Moreno J, Dominguez V, Lopez-Sebastian A, Cocero MJ.** Reproductive season affects inhibitory effects from large follicles on the response to superovulatory FSH treatment in ewes. *Theriogenology*, v.60, p.281-288, 2003.
- Gonzalez-Bulnes A, Garcia-Garcia RM, Santiago-Moreno J, Lopez-Sebastian A, Cocero MJ.** Effects of follicular status on superovulatory response in ewes is influenced by the presence of corpus luteum at the first FSH dosage. *Theriogenology*, v.58, p.1607-1614, 2002.
- Gonzales-Bulnes A, Santiago-Moreno J, Gomez-Brunet A, Lopez-Sebastian A.** Relationship between ultrasonographic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration during the oestrous cycle in monovular ewes. *Reprod Domest Anim*, v.35, p.65-68, 2000.
- Gordon I.** Controlled reproduction in sheep and goats. Cambridge, UK: University Press, 1997.
- Greve T, Callesen H, Hytell P, Hoier R, Assey R.** The effects of exogenous gonadotrophins on oocyte and embryo quality in cattle. *Theriogenology*, v.43, p.41-50, 1995.
- Hansen PJ, Drost M, Rivera RM, Paula-Lopes FF, al-Katanani YM, Krininger CE 3rd, Chase CC Jr.** Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. *Theriogenology*, v.55, p.91-103, 2001.
- Husein MQ, Bailey MT, Ababneh MM, Romano JE, Crabo BG, Wheaton JE.** Effect of eCG on the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside the breeding season. *Theriogenology*, v.49, p.997-1005, 1998.
- Jablunka-Shariff A, Grazul-Bilska AT, Redmer DA, Reynolds LP.** Growth and cellular proliferation of ovine corpora lutea throughout the estrous cycle. *Endocrinology*, v.133, p.1871-1879, 1993.
- Lauria A, Genazzani AR, Oliva O.** Clinical and endocrinological investigation on superovulation induced in heifers by human menopausal gonadotrophin (hMG). *Theriogenology*, v.18, p.357-64, 1982.
- Lopes Júnior ES, Maia ELMM, Almeida KC, Paula NRO, Teixeira DIA, Rondina D, Selaive-Villaroel AB, Freitas VJF.** Influência dos níveis plasmáticos de progesterona sobre a resposta ovariana e produção embrionária de ovelhas Morada Nova. *Acta Sci Vet*, v.34, suppl, p.510, 2006. Resumo.
- Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW.** Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci*, v.70, p.3615-3626, 1992.
- Manalu W, Sumaryadi MY.** Maternal serum progesterone concentration during pregnancy and lamb birth weight at parturition in Javanese thin-tail ewes carrying different fetal sizes. *Small Rumin Res*, v.30, p.163-169, 1998.
- McCracken JA, Schams W, Okulicz WC.** Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF-2a from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation during early pregnancy. *Anim Reprod Sci*, v.7, p.31-55, 1984.
- Moberg GP.** A model for assessing the impact of behavioral stress on domestic animals. *J Anim Sci*, v.65, p.1228-1235, 1987.
- Moberg GP.** Biological response to stress: implications for animal welfare. In: Moberg G, Mench JA. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. Davis, CA: University of California, 2000. p.1-22.
- Mobini S, Heath AM, Pugh DG.** *Teriogenologia de ovinos e caprinos*. In: Pugh DG. *Clínica de ovinos e caprinos*. São Paulo: Roca, 2004. 513p.
- Murphy BD, Mapletoft RJ, Manns J, Humphrey WD.** Variability in gonadotrophin preparation as a factor in superovulatory response. *Theriogenology*, v.21, p.117-125, 1984.
- Murphy BD, Martinuk SD.** Equine chorionic gonadotrophin. *Endocr Rev*, v.12, p.27-44, 1991.
- Naqvi SMK, Maurya VP, Gulyani R, Joshi A, Mittal JP.** The effect of thermal stress on superovulatory response and embryo production in Bharat Merino ewes. *Small Rumin Res*, v.55, p.57-63, 2004.
- Neiva JNM, Teixeira M, Turco SHN, Oliveira SNP, Moura AAAN.** Efeito do estresse climático sobre os parâmetros produtivos e fisiológicos de ovinos Santa Inês mantidos em confinamento na região litorânea do nordeste do Brasil. *Rev Bras Zootec*, v.33, p.668-678, 2004.
- Nottle MB, Kleeman DO, Seamark RF.** Effect of previous undernutrition on the ovulation rate of Merino ewes supplemented with lupin grain. *Anim Reprod Sci*, v.49, p.29-36, 1997.
- Pendleton RJ, Youngs CR, Rorie RW, Pool SH, Memon MA, Godke RA.** Follicle stimulating hormone versus pregnant mare serum gonadotrophin for superovulation of dairy goats. *Small Rumin Res*, v.8, p.217-224, 1992.
- Pereira JCC.** *Fundamentos de bioclimatologia aplicados à produção animal*. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005.
- Rabiee AR, Lean IJ, Gooden JM, Miller BJ, Scaramuzzi RJ.** An evaluation of transovarian uptake of metabolites using arterial-venous difference methods in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*, v.48, p.9-25, 1997.
- Rae MT, Kyle CE, Miller DW, Hammond AJ, Brooks AN, Rhind SM.** The effects of undernutrition, in uterus, on reproductive function in adult male and sheep. *Anim Reprod Sci*, v.72, p.63-71, 2002.
- Rhind SM, McNeilly AS.** Effects of level of food intake on ovarian follicle number, size and steroidogenic capacity in the ewe. *Anim Reprod Sci*, v.52, p.131-138, 1998.
- Rhind SM, McNeilly AS.** Follicle populations, ovulation rates and plasma profiles of LH, FSH and prolactin in



- Scottish Blackface ewes in high and low levels of body condition. *Anim Reprod Sci*, v.10, p.105-115, 1986.
- Rizzo H, François D, Fassier T, Guitton E, Baril G, Cognié J, Fatet A, Guignot F, Mermillod P, Petit JP, Becker JF, Remy B, Foucras, Meyer G.** Transferência de embriões como ferramenta para formação de rebanho experimental ovino. In: Congresso Brasileiro de Buiatria, 8, 2009, Belo Horizonte, MG. Anais... [s.l.]: Associação Brasileira de Buiatria, 2009. (Ciênc Anim Bras, supl.1, 2009).
- Robinson JJ, Ashworth CJ, Rooke JA, Mitchell LM, McEvoy TG.** Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Anim Feed Sci Technol*, v.126, p.259-276, 2006.
- Robinson JJ, Sinclair KD, McEvoy TG.** Nutritional effects on foetal growth. *Anim Sci*, v.68, p.315-331, 1999.
- Rubianes E, Menchaca A.** Dinâmica folicular, sincronização de estro e superovulação em ovinos. *Acta Sci Vet*, v.34, suppl. 1, p.251-261. 2006.
- Rubianes E, Ungerfeld R, Vinóles C, Rivero A, Adams GP.** Ovarian response to gonadotrophin treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes. *Theriogenology*, v.47, p.1479-1488, 1997.
- Sales HO, Andrioli A, Simplicio AA, Medeiros JN, Machado OM.** Manual de transferência de embriões em caprinos. Sobral: Embrapa Caprinos, 2002. (Documento, 40).
- Santos GMC, Silva KCF, Casimiro TR, Costa MC, Mori RM, Mizubuti IY, Moreira FB, Seneda MM.** Reproductive performance of ewes mated in the spring when given nutritional supplements to enhance energy levels. *Anim Reprod*, v.6, p.422-427, 2009.
- Sawyer GJ.** The influence to radiant heat load in Merino ewes. II. The relative effects of heating before and after insemination. *Aust J Agric Res*, v.30, p.1143-1149. 1979.
- Scaramuzzi RJ.** Reproduction research in perspective. *Proc Aust Soc Anim Prod*, v.17, p.57-73, 1988.
- Schiewe MC, Fitz TA, Brown JL.** Relationship of oestrus synchronization method, circulating hormones, luteinizing hormone and prostaglandin F2-a receptors and luteal progesterone concentration to premature luteal regression in superovulated sheep. *J Reprod Fertil*, v.93, p.19-30, 1991.
- Silva JCB, Andrade JCO, Okabe WK, Anjos J, Paes de Barros MB, Dias LMK, Sales JNS.** Produção de embriões ovinos da raça Santa Inês e o efeito do grau de qualidade dos embriões na taxa de concepção de receptoras. *Acta Sci Vet*, v.36, suppl. 2, p.620, 2008. Resumo.
- Silva Sobrinho AG.** Aspectos quantitativos e qualitativos da produção de carne ovina. In: A produção animal na visão dos brasileiros. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira De Zootecnia, 38, 2001, Piracicaba, SP. Anais... Piracicaba: FEALQ, 2001. p.425-446.
- Thibier M, Nibart M.** Clinical aspects of embryo transfer in some domestic farm animals. *Anim Reprod Sci*, v.28, p.139-148, 1992.
- Torres S, Sevelle C.** Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe. *Reprod Nutr Dev*, v.27, p.859-863, 1987.
- Traldi AS, Visintin VA, Mizuta K, Dela Libera AMP, Silva EC, Rodrigues PHM.** Resposta superovulatória de caprinos à gonadotrofina da menopausa humana (hMG). *Arq Fac Vet UFRGS*, v.24, suppl, p.218, 1996. Resumo.
- Vallet JL, Lamming GE, Batten M.** Control of endometrial ocitocin receptor and uterine response to ocitocin by progesterone and estradiol in the ewes. *J Reprod Fertil*, v.90, p.625-634, 1990.
- Varago FC.** Superovulação em ovelhas da raça Santa Inês e criopreservação de embriões. 2009. 80f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG, 2009.
- Veiga-Lopez A, Gonzalez-Bulnes A, Garcia-Garcia RM, Dominguez V, Cocero MJ.** The effects of previous ovarian status in ovulation rate and early embryo development in response to superovulatory FSH treatments in sheep. *Theriogenology*, v.63, p.1973-1983, 2005.
- Webb R, Armstrong DG.** Control of ovarian function: effect of local interactions and environmental influences on follicular turnover in cattle: a review. *Livest Prod Sci*, v.53, p.95-112, 1998.
- Wilson SJ, Kirby CJ, Kenigsfeld AT, Keisler DH, Lucy MC.** Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. *J Dairy Sci*, v.81, p.2132-2138, 1998a.
- Wilson SJ, Marion RS, Spain JN, Spiers DE, Keisler DH, Lucy MC.** Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *J Dairy Sci*, v.81, p.2124-2131, 1998b.
- Wiltbank MC, Lopez H, Sartori R, Sangsritavong S, Gumen A.** Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*, v.65, p.17-29, 2006.
- Yaakub H, O'Callaghan D, O'Doherty JV, Hyttel P.** Effect of dietary intake on follicle numbers and oocyte morphology in unsuperovulated and superovulated ewes. *Theriogenology*, v.47, p.182, 1997.
- Zurek E, Foxcroft OR, Kennelly JJ.** Metabolic status and interval in postpartum dairy cows to first ovulation. *J Dairy Sci*, v.78, p.1909-1920, 1995.
-