

## Colheita Transcervical de Embriões Ovinos da Raça Santa Inês no Semi-árido Nordeste.

*Transcervical embryo recovery in Santa inês ewes in northest semi-arid.*

GUSMÃO, A.L.<sup>1\*</sup>; SILVA, J.C; QUINTELA, A.; MOURA, J.C. A.; RESENDE, J.; GORDIANO, H.; CHALHOUB, M.; RIBEIRO FILHO, A.L.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; BARBOSA, L. P.

1. Escola de Medicina Veterinária – UFBA.

\* Endereço para correspondência: [gusmao@ufba.br](mailto:gusmao@ufba.br)

### RESUMO

Com o objetivo de avaliar a eficiência da colheita transcervical de embriões em ovelhas Santa Inês, 49 animais foram tratados com dispositivo vaginal impregnado de progesterona (CIDR-G), durante 13 dias e superovulados com 200mg de FSHp (Folltropin-V) durante três dias consecutivos em intervalos de 12 horas, a partir do 11º dia do programa e 200UI de eCG no 13º, quando foi retirada o CIDR. Foram inseminadas laparoscopicamente com sêmen fresco 36 horas após a remoção do CIDR e divididas em três grupos. O G1- grupo controle (n= 13) não recebeu tratamento para dilatar a cérvix, o G2 (n=17) recebeu 50µg de cloprostenol (Ciosin), 12 horas antes das colheitas, e o G3 (n=19) recebeu 200µg de misoprostol (Cytotec) no fornix vaginal, cinco horas antes dos procedimentos. O G1 não permitiu a passagem do cateter e foi encaminhado à colheita cirúrgica, juntamente com as fêmeas que receberam dilatadores cervicais em que, não foi possível a transposição cervical. Do G2, em 59% fez-se colhetas transcervicalmente, enquanto no G3, foi possível adotar esse procedimento em 63% dos animais. Quanto à resposta superovulatória, a relação de embriões viáveis nos grupos foi de 3,70±4,56; 3,30±3,47 e 4,00±4,33 e a quantidade de estruturas totais colhidas por doadora foi de 6,15±7,02; 6,50±2,01 e 6,50±4,6, respectivamente, para os grupos G1, G2 e G3, não havendo diferença significativa entre os grupos (p>0,05). Conclui-se assim que a colheita transcervical de embriões em ovelhas Santa Inês é possível em animais pluríparos, mas existe uma grande variação individual no grau de complexidade entre indivíduos de um mesmo

grupo racial, mesmo se utilizando um dilatador cervical farmacológico. Além disso, o resultado da colheita entre os grupos, em relação ao número de embriões encontrados não diferiu, mostrando ser exequível a colheita transcervical de embriões em ovelhas Santa Inês.

Palavras-chave: colheita transcervical, ovinos, transferência de embriões.

### SUMMARY

With the aim to evaluate the transcervical embryos recovery efficiency in Santa Ines sheep, 49 animals were submitted to superovulation with 200mg of FSHp (Folltropin-V), starting at the 11<sup>th</sup> day of the program and inseminated by laparoscopy with fresh semen 36 hours after removing the intravaginal dispositive containing progesterone. Females were divided into three groups: G1 – control group (n = 13) which did not receive treatment to dilate the cervix; G2 – (n=17) received 50µg of cloprostenol (Ciosin) 12 hours before the embryo recovery; and, G3 – (n=19) received 200µg of misoprostol (Cytotec) in the vaginal fornix, five hours before the procedures. The passage of the catheter through cervix was not possible for control group (G1). Those animals were directed to surgical recovery as well those females which received cervical expanders but the cervical transposition was not possible. In fifty nine percent of G2, the transcervical recovery method was used, while 63% of the G3 allowed this procedure. For the superovulatory response, the relation of acceptable embryos in the groups was in average of 3,7; 3,3 and 4,0, and the total

structures recovered from donor was of 6,1; 6,5 and 6,5, respectively for the groups G1, G2 and G3, showing no significant difference among the studied groups ( $p>0,05$ ). It was concluded that the technique of transcervical embryo recovery in pluriparous Santa Ines sheep is possible, but there is a great individual variation for the complexity degree in the same racial group using a

pharmacological cervical expander and, that the result of the recovery among groups related to the number of embryos didn't differ, showing to be feasible the transcervical embryo recovery in Santa Ines sheep.

Keywords: embryo, sheep, transcervical

## INTRODUÇÃO

A cérvix é uma estrutura de difícil acesso, nas fêmeas ovinas, devido às características anatômicas peculiares. É semelhante a um esfíncter, que se projeta caudalmente na vagina, de constituição fibrosa composta predominantemente por tecido conjuntivo com pequena quantidade de tecido muscular liso, caracterizada por uma parede espessa e por um lúmen constrito com várias proeminências formando os anéis cervicais que se adaptam um ao outro ocluindo a cérvix com segurança (HAFEZ e HAFEZ, 2004). A cérvix permanece firmemente fechada, exceto durante o cio, quando se relaxa levemente, permitindo a entrada dos espermatozoides no útero (EVANS e MAXWELL, 1990; HAFEZ e HAFEZ, 2004) e durante o trabalho de parto, para permitir a saída do feto (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

É importante lembrar que a vagina da ovelha contém pregas que podem produzir espaços cegos ao redor da entrada da cérvix. O reconhecimento dessas pregas é fundamental para que se possa, através dos métodos não-cirúrgicos, introduzir a pipeta de Inseminação Artificial (IA) ou o cateter de lavagem na colheita de embriões (HALBERT et al., 1990).

Um dos fatores que limita a utilização da Transferência de Embriões (TE) em ovinos é a grande dificuldade para se

transpor o obstáculo do canal cervical e realizar colheitas pelo método transcervical, uma vez que é longo sinuoso e de diâmetro reduzido nessa espécie (HALBERT et al. 1990). Esse fato torna o método cirúrgico e o laparoscópico as únicas opções de colheita, o que traz como desvantagens a necessidade da aquisição de equipamento de elevado custo, a execução por um profissional com boa habilidade e principalmente a possibilidade de formação de aderências do sistema genital das doadoras, reduzindo o número de colheitas numa mesma fêmea e, algumas vezes, até comprometendo a vida reprodutiva futura de animais de alto valor genético (HOLTZ, 2000; SALLES, 2002).

Estudos com o objetivo de dilatar o canal cervical de ovelhas em programas de IA e TE transcervicais têm sido conduzidos por vários autores, com resultados variados. Com esse propósito, Oliveira (1992) e Ishwar e Memon (1996) utilizaram a  $PGE_1$ , associada ao estradiol, para promover o relaxamento cervical em pequenos ruminantes. Outras drogas também foram utilizadas, como a ocitocina (SAYRE e LEWIS, 1996), a  $PGE_2$  associada ao estradiol (BARRY et al., 1990; McKELVEY et al., 1997), a ocitocina juntamente com o estradiol (FLOHR et al., 1999; WULSTER-RADCLIFFE et al., 1999),  $PGF_{2\alpha}$

(SOUSA, 1999), interleucina humana (CROY et al., 1999), cloridrato de bromexina (ALMEIDA et al., 2002).

Assim, este trabalho foi conduzido com o objetivo comparar a ação de duas substâncias destinadas a permitir a colheita transcervical e a resposta embrionária entre a colheita cirúrgica tradicional e a não - cirúrgica em circuito fechado de ovelhas Santa Inês, superovuladas com FSHp, em programas de transferência de embriões em condições de fazenda.

### **Animais**

Utilizaram-se como doadoras 49 ovelhas da raça Santa Inês, pluríparas, numa faixa etária de dois a cinco anos. Esses animais foram classificados quanto à condição corporal em escores de 3 a 4 (variação de um a cinco) e distribuídos aleatoriamente em dois grupos. Foram utilizados também três carneiros em bom estado nutricional e sanitário, de comprovada fertilidade.

A técnica descrita neste experimento foi realizada sem causar estresse ou dor aos animais. Foram bem manejados e anestesiados para realização dos procedimentos, de acordo com os princípios éticos da experimentação animal dispostos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

### **Material e Métodos**

#### **Local e Manejo dos Animais**

Os trabalhos foram realizados na Fazenda Tinguí, localizada no município de Serra Preta, Bahia, situada à latitude de 12°10' sul e longitude de 39°20' oeste, área inserida no Polígono das Secas, com um tipo climático semi-árido, apresentando

temperatura média anual de 23,7°C (C.E.I., 1994b).

Os animais, doadoras e reprodutores, foram mantidos em regime semi-intensivo de criação, alimentados com capim Buffel a campo, recebendo uma suplementação mineral e água à vontade, e arraçoados duas vezes ao dia (200 gramas) com ração comercial (PRIMOR<sup>®</sup>), antes de ir ao campo e no fim do dia ao retorno para pernoitar no ovil. O calendário de vacinação e vermifugação da região foi rigorosamente seguido, conferindo aos animais adequadas condições sanitárias.

#### **Superovulação das doadoras**

As ovelhas receberam aplicações de dispositivos vaginais impregnados com 0.33g de progesterona (CIDR-G, InterAg, Nova Zelândia), que foram trocados no 9º dia de tratamento por dispositivos novos, permanecendo na vagina até o 13º dia do programa. O tratamento superovulatório teve início no 11º dia, sendo utilizados 200mg NIH-FSH-S1 de FSHp (Folltropin, Vetrepharm Inc., Canadá) divididos em seis aplicações em doses decrescentes administradas em intervalos de 12 horas. No momento da última aplicação de FSHp, foram administrados também 200UI de eCG (Novormon, Syntex, Argentina) e a fonte progesterônica foi retirada.

A inseminação ocorreu através da técnica laparoscópica intra-uterina, com sêmen fresco colhido de carneiros de comprovada fertilidade, 36 horas após a remoção do dispositivo liberador de progesterona, sem observação de estro. Foram utilizadas pipetas ASPIC (IMV – Ref. 005546), para injeção do sêmen diretamente no útero, em um volume de 0,25 ml, com uma concentração de  $100 \times 10^6$  espermatozoides com movimentação progressiva por dose.

## Métodos de colheita

Os animais foram divididos em três grupos. O grupo I (n = 13) não recebeu nenhum tratamento farmacológico para dilatar a cérvix, o grupo II (n = 17) foi tratado 12 horas antes da colheita com 50µg de cloprostenol (Ciosin, Coopers, Brasil) via submucosa do vestíbulo vaginal, já os animais do grupo III (n = 19) foram tratados com um comprimido contendo 200µg de misoprostol (Cytotec, Searle, Brasil) dissolvido em solução fisiológica e infundido no fundo de saco vaginal cinco horas antes das colheitas, que foram realizadas no 21º dia do programa.

Os animais que não receberam tratamento visando dilatar o canal cervical e aqueles tratados nos grupos para colheita transcervical e que não permitiram a passagem do cateter foram conduzidos à colheita pelo método cirúrgico, formando o grupo cirúrgico. Esses animais, após jejum alimentar e hídrico de 24 horas, receberam uma anestesia dissociativa composta por 4% de Cloridrato de xilazina (Roumpum, Bayer, Brasil) e 20% de cloridrato de quetamina (Ketalar, Parke-Davis Co. Argentina), na dosagem de 1mL/ 10kg de peso vivo, via endovenosa.

Os animais foram contidos em maca apropriada, em decúbito dorsal, para a realização da tricotomia e anti-sepsia local com álcool iodado. Na linha alba foram infiltrados 10mL de lidocaína a 2% (Anestésico Pearson, Pearson, Brasil).

Através de uma incisão na linha alba, o útero foi exteriorizado com o auxílio de uma pinça de manipulação modelo Babcock. Cada corno uterino foi perfurado próximo à junção útero-tubárica com um angiocat 20G por onde foram injetados 40mL de solução salina fosfatada tamponada (Dulbecco

Modificado-DPBS, Embriocare, Cutilab, Brasil) a 37°C, acrescida 0,5% de surfactante (E.T.Surfactante, Vetrepharm Inc., Canadá). O lavado foi recolhido por meio de uma sonda foley nº8 fixada próxima à bifurcação uterina, direto em placa de Petri, sendo levado ao estereomicroscópio em aumento de 10 a 20X para identificação e classificação dos embriões. Todo o tempo gasto para a realização dos procedimentos, desde a contenção até o fim da colheita e liberação do animal, foi registrado para posterior avaliação.

As fêmeas tiveram seus úteros e a cavidade devidamente suturados, receberam 1mL/ 10kg de peso vivo de oxitetraciclina LA (Terramicina LA, Pfizer, Brasil) via intramuscular pré-cirurgia a fim de evitar possíveis infecções. Receberam ainda, após a lavagem, 50µg de cloprostenol (Ciosin, Coopers, Brasil) via submucosa do vestíbulo vaginal.

Os animais dos grupos II e III foram submetidos ao procedimento de colheita transcervical. Com o animal em estação em uma plataforma de contenção, a região perineal foi devidamente limpa e higienizada para a execução da colheita. Foi realizada anestesia epidural na região sacrococcígena, utilizando-se 1mL de lidocaína 2% (Anestésico Pearson, Pearson, Brasil). Após esses procedimentos, foi introduzido um espéculo vaginal para se visualizar, e localizar e fixar a cérvix com o auxílio de duas pinças modelo Pozzi, tracionando-a até o ponto mais próximo possível do vestíbulo vaginal. Com uma vela tipo Hegar Nº3, o canal cervical foi transposto e dilatado mecanicamente a fim de permitir a passagem do catéter de colheita. Foi utilizada uma sonda desprovida de balão com via única tipo Nelaton-Robinson com dois furos laterais

(Rusch<sup>®</sup>, ref. 220500 n° 10), com o auxílio de um mandril de aço inoxidável. A sonda foi então acoplada a um equipo com duas vias. Por uma extremidade foi injetado o meio de lavagem(DPBS) a 37°C acrescido de 0,5% de surfactante em alíquotas de 20mL, totalizando 480mL para cada animal. Pela outra extremidade, a solução foi recolhida em filtro coletor e levada ao estereomicroscópio para identificação e avaliação dos embriões. Todo o tempo gasto para a realização dos procedimentos, desde a contenção até o fim da colheita e liberação do animal, foi registrado para posterior avaliação. Após cada colheita, foram administrados na vagina 5mL de Nitrofurazona (Furanew Solução, Vetnil, Brasil), visando prevenir a contaminação de possíveis traumatismos, causado pelas pinças de Pozzi sobre os tecidos cervical e vaginal, e 50µg de cloprostenol (Ciosin, Coopers, Brasil) via submucosa do vestíbulo vaginal.

### Análise Estatística

Os resultados foram avaliados estatisticamente por meio de análise de variância (ANOVA) com auxílio do Programa SPSS (SPSS, Inc., 1992). A comparação entre as médias dos grupos foi realizada utilizando-se o teste t de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os agentes dilatadores cervicais utilizados neste experimento foram eficientes em promover o relaxamento cervical como está demonstrado na tabela 1 a seguir. Não houve diferença significativa entre os grupos trabalhados II e III, no que tange a quantidade de animais que possibilitaram a transposição cervical. No grupo II, a eficiência foi de 59% (10/17) e, no grupo III, 63% (12/19) das doadoras foram lavadas pela via não-cirúrgica. O grupo controle não permitiu a transposição cervical, inviabilizando a colheita não-cirúrgica.

Tab.1: Quantidade média de embriões resultante da colheita transcervical com administração de PGF<sub>2α</sub> ou PGE<sub>1</sub> como agente dilatador cervical de ovelhas Santa Inês superovuladas com FSH

	PGF <sub>2α</sub>	PGE <sub>1</sub>	SEM DILATADOR
Nºanimais tratados	17	19	13
Nº animais colhidos não cirurgicamente	10 <sup>a</sup>	12 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>
Tempo de execução (min.) ( $\chi \pm \sigma$ )	27,30 ± 7,65 <sup>a</sup>	32,75±9,83 <sup>a</sup>	-
Quantidade de meio recuperado (%)	95,6 <sup>a</sup>	95,7 <sup>a</sup>	-
Quantidade de embriões viáveis ( $\chi \pm \sigma$ )	3,30±3,47 <sup>a</sup>	4,00±4,33 <sup>a</sup>	-
Quantidade de estruturas degeneradas ( $\chi \pm \sigma$ )	3,20±2,44 <sup>a</sup>	2,50±8,64 <sup>a</sup>	-
Quantidade de estruturas totais ( $\chi \pm \sigma$ )	6,50±2,01 <sup>a</sup>	6,50±4,66 <sup>a</sup>	-

Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas (p<0,05)

De todas as fêmeas encaminhadas à colheita transcervical, em 39% das doadoras não foi possível transposição da cérvix, percentual superior aos 20% do insucesso descrito por Almeida et al.

(2002) e semelhante aos achados de Scudamore et al. (1991) que colocam esse índice como grande desvantagem da colheita não-cirúrgica.

A grande variabilidade na eficiência da transposição cervical na raça Santa Inês talvez se explique pelo fato dessa raça ser uma raça sintética com infusão sangüínea de animais Morada Nova, Bergamácia, Somalis, variando as e suas características anatômicas de acordo com o grau sangüíneo de cada raça que compõe o indivíduo. Almeida et al. (2002) relatam a impossibilidade de passagem cervical nas fêmeas Morada Nova, mesmo se utilizando um agente dilatador cervical, enquanto que, em fêmeas Santa Inês, foi possível a colheita em 80% das fêmeas manipuladas sob o mesmo manejo, o que evidencia a variação racial e individual na raça Santa Inês.

Diferenças significativas não foram observadas em relação à quantidade de embriões encontrados na colheita transcervical, utilizando-se  $PGF_{2\alpha}$  ou  $PGE_1$  como possíveis agentes dilatadores cervicais (Tab.1), mostrando que essas duas drogas possibilitam uma transposição da cérvix sem interferir de maneira negativa na produção e qualidade dos embriões, havendo concordância com os relatos de BARRY et al. (1990); OLIVEIRA (1992); ISHWAR e MEMON (1996); McKELVEY et al. (1997); FLOHR et al. (1999) e ALMEIDA et al. (2002).

Tab.2: Quantidade de embriões resultantes da colheita transcervical com administração de  $PGF_{2\alpha}$  ou  $PGE_1$  como agente dilatador cervical e da colheita cirúrgica de ovelhas Santa Inês superovuladas com FSH

	CIRÚRGICO		NÃO CIRÚRGICO	
		$PGF_{2\alpha}$	$PGE_1$	
Nºanimais	27	17	19	
Nºanimais colhidos transcervicalmente	-	10 (58,8%)	12 (63,1%)	
Tempo de execução (min.) ( $\chi \pm \sigma$ )	47,41 $\pm$ 7,26 <sup>b</sup>	27,30 $\pm$ 7,65 <sup>a</sup>	32,75 $\pm$ 9,83 <sup>a</sup>	
Quantidade de meio recuperado (%)	100 <sup>a</sup>	95,6 <sup>a</sup>	95,7 <sup>a</sup>	
Quantidade de embriões viáveis ( $\chi \pm \sigma$ )	3,70 $\pm$ 4,56 <sup>a</sup>	3,30 $\pm$ 3,47 <sup>a</sup>	4,00 $\pm$ 4,33 <sup>a</sup>	
Quantidade de estruturas degeneradas ( $\chi \pm \sigma$ )	2,44 $\pm$ 6,58 <sup>a</sup>	3,20 $\pm$ 2,44 <sup>a</sup>	2,50 $\pm$ 8,64 <sup>a</sup>	
Quantidade de estruturas totais ( $\chi \pm \sigma$ )	6,15 $\pm$ 7,02 <sup>a</sup>	6,50 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>	6,50 $\pm$ 4,66 <sup>a</sup>	

Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ )

Na tabela 2, que resume os dados relativos à comparação entre a colheita cirúrgica e transcervical, pode-se observar que não houve diferença estatística significativa em relação à quantidade de embriões produzidos. Neste experimento, apesar de não terem sido feitas avaliações concernentes à recuperação embrionária, pois não foram avaliadas as respostas superovulatórias quanto à produção de corpos lúteos e quantidade de embriões obtidos, percebe-se com clareza que o método não-cirúrgico de colheita utilizado é tão eficiente na recuperação de estruturas quanto o método cirúrgico,

uma vez que não ocorreram diferenças estatísticas entre os métodos.

O tempo de execução para a técnica cirúrgica transcervical utilizando  $PGF_{2\alpha}$  e transcervical utilizando  $PGE_1$  como agentes dilatadores cervicais foi de 47,4; 27,3 e 32,7 minutos, respectivamente, revelando-se o método transcervical mais rápido, de acordo com as observações feitas por Andrioli-Pinheiro (1993) quando submeteu fêmeas caprinas a diferentes tipos de colheitas.

Os percentuais de recuperação do meio de lavagem obtidos nas colheitas transcervical com  $PGF_{2\alpha}$  e transcervical

PGE<sub>1</sub>, neste experimento, foram de 95,6% e 95,7%, sendo superiores às taxas alcançadas por Barry et al. (1990) e Oliveira (1992) e similar à reportada por Gusmão et al. (2002) e Salles (2002) quando fizeram colheita transcervical em circuito fechado em fêmeas caprinas.

Foram utilizados dois CIDRs, de acordo com os protocolos propostos por Cognie (1999), Steyn (2000) e Thompson et al. (1990), a fim de se obter uma maior quantidade possíveis de embriões transferíveis por fêmea doadora, mas os efeitos sincrônicos de tal protocolo não foram notados, pois não foram observados os sinais clínicos do estro e essas fêmeas foram inseminadas em tempo fixo, 36 horas após a retirada da fonte progesterônica.

Das 49 ovelhas Santa Inês trabalhadas, 26% não mostraram resposta superovulatória, isto é, a produção de mais de dois embriões por ovelha doadora, visto que fêmeas dessa espécie naturalmente produzem, com bastante frequência, prenhez dupla. Essa falha na resposta superovulatória foi também descrita por Cognie (1999), Naqvi e Gulyani (1999), Traldi (2000), Silva et al. (2001) e Naqvi et al. (2001), como um dos grandes entraves de programas a MOET em animais domésticos. Foi notado neste ensaio que, sob um mesmo manejo e tratamento superovulatório, alguns animais não produziram embriões e outros responderam com uma produção de até 31 estruturas.

A inseminação artificial foi realizada com o auxílio do laparoscópio e a dose inseminante foi depositada a fresco diretamente no útero. Esse procedimento foi adotado, visto que ovelhas submetidas a protocolos de sincronização e superovulação têm sua fertilidade

reduzida, talvez pelos efeitos nocivos de altas taxas de estradiol no organismo, que irão interferir no transporte e na qualidade dos oócitos. Blanco et al. (2003) e Bari et al. (2000) relatam que estas falhas de fertilização são decorrentes da estrutura intrincada da cérvix ovina, que dificulta a deposição do sêmen no lúmen uterino, e do comprometimento do transporte espermático em fêmeas sincronizadas e superovuladas.

Com os achados apresentados podemos concluir que é possível a realização de colheita transcervical de embriões em ovelhas Santa Inês em condições de campo, quando combinada com o método cirúrgico. Faz-se necessário, contudo, o desenvolvimento de um protocolo de superovulação que eleve o número de embriões viáveis, independentemente do método empregado.

Mais estudos são necessários para tornar o método não-cirúrgico de colheita de embriões em ovelhas Santa Inês uma prática rotineira de campo. Entretanto, foi possível verificar um significativo progresso da técnica com o andamento do experimento, quando se ganhou mais experiência e sensibilidade, o que aumentou o sucesso na transposição da cérvix. O ambiente de trabalho e equipamento de contenção também podem interferir no resultado. Locais muito quentes e sem controle de moscas domésticas interferem na concentração e no bem-estar do operador e dos animais.

### **Agradecimentos**

*Nosso agradecimento à Agência Japonesa de Cooperação Internacional (JICA), pelo apoio e doação de equipamentos, e à Fazenda Jataí, pela disponibilização dos animais.*

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V.M.; CÂMARA, D.R.; SALLES, H.O.; OLIVEIRA, D.P.F.; MEDEIROS, J.N.; ALVES, O.M.M. Colheita de embriões via transcervical em ovinos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** n.5, p.82-84, 2002. (supl.).
- ANDRIOLI-PINHEIRO, A. **Métodos de colheita e de inovulação de embriões caprinos (*Capra hircus*, Linnaeus, 1758) e os efeitos de repetidas colheitas na vida reprodutiva de doadoras.** 1993. 90 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- BARI, F.; KHALID, M.; HARESING, W.; MURRAY, A.; MERRELL, B. Effect of mating system, flushing procedure, progesterone dose and donor ewe age on the yield and quality of embryos within a moet program in sheep. **Theriogenology**, v.53, p.727-742, 2000.
- BARRY, D.M.; VAN NIEKERK, C.H.; RUST, J.; VAN DER WALT, T. Cervical embryo collection in sheep after ripening of the cervix with prostaglandin E2 and estradiol. **Theriogenology**, v. 33, p. 190-199.
- BLANCO, M.R.; SIMONETI, L.; RIVERA, O.E. Embryo production and progesterone profiles in ewes superovulated with different hormonal treatments. **Small Ruminant Research**, v. 47, p.183-191, 2003.
- C.E.I. – CENTRO DE ESTATÍSTICA E INFORMAÇÕES (BA). Região Nordeste. In: **Informações básicas dos municípios baianos.** Salvador, 1994. p.760-762.
- COGNIE, Y. State of the Art in sheep-goat embryo transfer. **Theriogenology**, v.51, p.105-116, 1999.
- CROY, B.A.; PRUDENCIO, J.; MINHAS, K.; ASHKAR, A.A.; GALLIGAN, C.; FOSTER, R.A.; BUCKRELL, B.; COOMBER, B.L. A preliminary study on the usefulness of huil-8 in cervical relaxation of the ewe for artificial insemination and for embryo transfer. **Theriogenology**, v.52, n.2, p. 271-287, 1999.
- EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. Insemination. In: EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. **Inseminación Artificial de Ovejas y Cabras.** 4. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 1990. p.143-165.
- FLOHR, S. F.; WULSTER-RADCLIFFE, M. C.; LEWIS, G. S. Technical note: development of transcervical oocyte recovery procedure for sheep. **Journal of Animal Science**, v.77, n.10, p.3583-3586, 1999.
- GUSMÃO, A.L.; RESENDE, J.; OLIVEIRA, J.V.L.; RIBEIRO FILHO, A.L.; ANDRADE MOURA, J.C.; SILVA, J.C.; BRAGA, W. Modificação da técnica de colheita transcervical de embriões de cabras com cateter desprovido de balão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.** n.5, p.101-103, 2002. (supl).
- HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Anatomia da reprodução feminina. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal.** 7. ed. São Paulo: Ed. Manole, 2004. p.13 - 29.
- HALBERT, G. W.; DOBSON, H.; WALTON, J. S. The structure of the cervical canal of ewe. **Theriogenology**, v.33, n.5, p. 977-992, 1990.
- HOLTZ, W. Embryo Transfer in Goats in Europe: State of the Art and Future Perspectives. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 1.,2000, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, 2000. p.265.



ISHWAR, A. K.; MEMON, M. A. Embryo transfer in sheep and goats: a review. **Small Ruminant Research**, v.19, p.35-43, 1996.

McKELVEY, W.A.C.; McEVOY, T.G.; DINGWALL, W.S.; ROBINSON, J.J.; LINDSAY, E.; KING, M.E.; FITZSIMONS, J.; MYLENE, M.J.A. The use of exogenous hormones to facilitate transcervical embryo recovery in sheep and their effect on embryo development. **Theriogenology**, v.47, p.369, 1997.

NAQVI, S.M.K.; GULYANI, R. Ovarian response and embryo recovery to different superovulatory regimens in Rambouillet ewes under semi-arid conditions. **Small Ruminant Research**, v.34, p.127-131, 1999.

NAQVI, S.M.K.; ANIL JOSHI, G.K.; MITTAL, J.P. Development and application of ovine reproductive Technologies: an Indian experience. **Small Ruminant Research**, v.39, p.199-208, 2001.

OLIVEIRA, V. S. **Efeitos do hormônio folículo estimulante (FSH) e da gonadotrofina da menopausa humana (hMG) como agentes superovulantes em cabras (*Capra hircus*, Linnaeus, 1758) Utilizadas em Transferência de Embriões.** 1992. 97 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

SALLES, H. O. **Circuito Fechado para Colheita de Embriões em Caprinos.**

Disponível em:

<<http://www.cnpc.embrapa.br/embrioes.htm>>

Acesso em 08 ago. 2002.

SAYRE, B.L.; LEWIS, G.S. Cervical dilation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewes. **Theriogenology**, v.46, n.2, p.233-241, 1996.

SCUDAMORE, C.L.; ROBINSON, J.J.; AITKEN, R.P.; KENNEDY, D.J.; IRELAND, S.; ROBERTSON, I.S. Laparoscopy for intrauterine insemination

and embryo recovery in superovulated ewes at a commercial embryo transfer unit. **Theriogenology**, v.35, n.2, p.329-337, 1991.

SILVA, J. C.; MELLO, A.; RESENDE, J.; OLIVEIRA, J. V. L.; ANDRADE MOURA, J. C.; RIBEIRO FILHO, A. L.; COELHO LIMA, M. C.; BONINA, G.; GUSMÃO, A. L. Superovulação de Ovelhas Santa Inês Através de uma única Injeção Subcutânea de FSH Dissolvido em Polivinilpirrolidona. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 24., 2001, Belo Horizonte. **Anais ... Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, 2001. p.500.

SOUSA, J. H. M. **Coleta de embriões e resposta superovulatória utilizando diferentes preparações de FSH em ovelhas deslanadas na região semi-árida da Paraíba.** 1999.57p, Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Paraíba.

SPSS Inc. **SPSS for windows base system user's guide release 5.0.** Chicago, 1992. 672p.

STEYN, J.J. Embryo Transfer in sheep and goats in south Africa present state and future perspectives. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 1., 2000, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, 2000. 265p. p.183-188.

THOMPSON, J.E.; SIMPSON, A.C.; TERVIT, H.R. The application progesterone-containing CIDR devices to superovulated ewes. **Theriogenology**, v.33, p.1297-1296, 1990.

TRALDI, A. S. Controle farmacológico do ciclo estral e da superovulação em caprinos e ovinos. In: BARUSELLI, P. S. ; MADUREIRA, E. H **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes.** São Paulo: Fundação da

Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia, USP, 2000. p.306 – 332.

WULSTER-RADCLIFFE, M. C.; COSTINE,  
B. A.; LEWIS, G.S. Estradiol-17 $\beta$ - Oxytocin  
– induced cervical dilation in sheep:  
application to transcervical embryo transfer.  
**Journal Animal Science**, v.77, n.10, p.2587-  
2593, 1999.