UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL E RADIOLOGIA VETERINÁRIA

PARÂMETROS QUALI-QUANTITATIVOS NA SELEÇÃO DE RECEPTORAS EM PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES OVINOS

THIAGO MATOS DE OLIVEIRA

Botucatu - SP

Dezembro 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL E RADIOLOGIA VETERINÁRIA

PARÂMETROS QUALI-QUANTITATIVOS NA SELEÇÃO DE RECEPTORAS EM PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES OVINOS

THIAGO MATOS DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da Universidade
Estadual "Júlio de Mesquita Filho"
Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestre em
Medicina Veterinária, Área de
Reprodução Animal.

Orientador: Eunice Oba

Co-orientador: Sony Dimas Bicudo

Botucatu-SP Dezembro

2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO

DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Oliveira, Thiago Matos de.

Parâmetros quali-qualitativos na seleção de receptoras em programas de transferência de embriões ovinos / Thiago Matos de Oliveira. – Botucatu : [s.n.], 2009

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2009.

Orientadora: Eunice Oba

Co-orientador: Sony Dimas Bicudo

Assunto CAPES: 50504002

1. Ovino - Reprodução 2. Transferência de embriões

CDD 636.30824

Palavras-chave: Ovinos; Receptoras; Transferência de embrião

Nome do autor: Thiago Matos de Oliveira

Título: PARÂMETROS QUALI-QUANTITATIVOS NA SELEÇÃO DE RECEPTORAS EM PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES OVINOS

Comissão Examinadora

Prof. Dra. Eunice Oba

Presidente e Orientador

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ Unesp Botucatu

Prof. Dr. Gilson Hélio Toniollo

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal

FCAV Unesp Jaboticabal

Profa. Dra. Maria Inês Lenz Souza

Departamento de Morfofisiologia

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Data da Dissertação: 18/12/2009

A minha amada Família,
Luiz meu pai, Sônia minha mãe,
Thaisa e Thiego meus irmãos.
Aos meus avós, tios e primos.
A Liliana meu amor.

Agradecimentos

Aos meus Pais Luiz e Sônia, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, que renunciaram aos seus sonhos, para que, muitas vezes, eu pudesse realizar os meus, Que NUNCA duvidaram de mim, desde meus primeiros passos até este grande e importante momento.

A vocês dois e meus amados irmãos, MUITO OBRIGADO POR TUDO!

A Liliana pelo apoio e amor.

A Professora Eunice pela orientação, paciência e auxílio na execução do experimento.

Ao Professor Sony pela orientação e confiança em mim depositada para execução deste trabalho.

Ao Mestre Leandro Rodello, sem o qual este trabalho não seria possível, por todos os ensinamentos, pela amizade e companheirismo durante todo o trabalho.

A Grande amiga Hení Falcão que muito auxiliou na execução deste trabalho, desde seu início até a conclusão do mesmo.

Ao amigo Marcel e todos que auxiliaram na execução deste experimento.

A todos os amigos feitos em Botucatu, em especial Thiago Martins, Rodrigo Bittencourt, Marcel Falleiros, André Crespilho, Hení Falcão, Priscila Fantini, Claudia Monteiro, Moisés Calvo, Daniela Montechiesi, Viviane Chirinéa, Eduardo Fioratti, Ana Augusta, Tathiana Motheo, Fernanda Ignácio, Rodolfo Cardoso, José Dell'Aqua Junior, Gabriel Monteiro e Cássia Orlandi e todos os outros pelos momentos agradáveis e divertidos.

À seção de pós graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp-Botucatu.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Ao Professor Dr. Carlos Roberto Padovani pela ajuda na realização e interpretação da análise estatística.

À Deus, por tornar tudo isso possível.

À todos, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	1
Abreviaturas	2
Resumo	3
Abstract	. 4
1 - Introdução	. 5
2 - Revisão de Literatura	6
2.1 - Características Morfométricas e Peso Corporal	. 6
2.2 - Exame ultrassonográfico	9
2.3 - Intervalo entre o fim do tratamento hormonal e início do estro e duraç	
2.4 - Atividade Luteal	12
2.5 - Fatores relacionados ao embrião	14
3 - Objetivos	14
3.1 - Objetivo geral	14
3.2 - Objetivos específicos	15
4 - Material e Métodos	15
4.1.1 - Delineamento experimental	15
4.1.2 – Animais	16
4.1.3 - Avaliação ultrassonográfica	16
4.1.4 - Avaliação morfométrica, de escore, peso corporal e idade animal	
4.1.5 - Protocolos hormonais	17
4.1.6 - Deteccão do estro	18

4.1.7 - Inseminação artificial e coleta dos embriões	19
4.1.8 - Inovulação das receptoras	. 19
4.1.9 - Quantificação da progesterona plasmática P4	20
4.2 - Análise Estatística	20
5 - Resultados e Discussão	20
6 - Conclusões	32
7 - Referências	. 33
8 - Trabalho científico	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Mediana e valores minimos e maximos das variaveis segundo
diagnóstico de gestação (sobrevivência embrionária) realizado aos 30 e 60
dias21
Tabela 2 – Porcentagens e limites de confiança da taxa de sobrevivência
embrionária pós-inovulação de embriões em diferentes estadios de
desenvolvimento
Tabela 3 – Porcentagens e limites de confiança da taxa de sobrevivência
embrionária dos diferentes graus de qualidade de embriões transferidos
24
Tabela 4 – Média e desvio padrão das variáveis segundo diagnóstico de
gestação (receptoras prenhes e não prenhes) realizado aos 30 e 60
dias
Tabela 5 – Distribuição do tipo de embrião inovulado (fresco ou congelado)
segundo diagnóstico de gestação (sobrevivência embrionária) realizado aos 30
e 60 dias
Tabela 6 – Distribuição do número de embriões inovulados segundo
diagnóstico de gestação (sobrevivência embrionária) realizado aos 30 e 60
dias
Tabela 7 – Medidas de associação dos postos (Spearman) entre as variáveis.
30

ABREVIATURAS

AC - altura de cernelha

BSA - albumina sérica bovina

CEI - comprimento esterno isquiático

CL - Corpo Lúteo

cm - centímetros

D - Dia do ciclo estral

eCG - Gonadotrofina Coriônica Equina

FGA - Acetato de Fluorogestona

FSH - Hormônio Folículo Estimulante

h - Hora

IA - Inseminação Artificial

IMC - índice de massa corporal

Kg - quilogramas

MAP - Acetato de Medroxiprogesterona

mg - Miligramas

MHz - megaHertz

mL - Mililitro

mm - Milímetro

ng - Nano grama

P - Grau de significância

p. v. - Peso Vivo

P4 - Progesterona

 $PGF_{2\alpha}$ – Prostaglandina

UI - unidade internacional

μg – Micro grama

OLIVEIRA, T.M. Parâmetros quali-quantitativos na seleção de receptoras em programas de transferência de embriões ovinos. Botucatu, 2009. Dissertação (Mestrado) – 69p - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP.

Resumo

Objetivou-se avaliar parâmetros quali-quantitativos relacionados à receptora e ao embrião inovulado e a relação destes com as taxas de sobrevivência embrionária ovina. Os parâmetros utilizados foram idade, peso, índice de massa corpórea, escore de condição corporal, número de corpos lúteos no momento da inovulação, aspecto dos corpos lúteos, concentração de progesterona plasmática, intervalo entre o fim do tratamento hormonal e início dos sinais de estro e a duração do estro das receptoras. Os embriões foram avaliados quanto ao estadio de desenvolvimento, qualidade, número de embriões inovulados e estado, congelado ou fresco. Foram utilizados 90 embriões das raças Santa Inês e Dorper, inovulados em receptoras sincronizadas com esponja impregnada com 60 mg medroxiprogesterona por 14 dias, somado à administração 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) no momento da retirada da esponja. Receptoras com maior índice de condição corporal e maior concentração de progesterona plasmática apresentaram melhor taxa de sobrevivência embrionária e entre esses dois fatores há uma correlação positiva. As demais variáveis relacionadas às receptoras não influenciaram de maneira significativa a taxa de sobrevivência embrionária. O estadio de desenvolvimento embrionário exerceu influência sobre a taxa de sobrevivência embrionária, a taxa de prenhez das receptoras não diferiu em relação à qualidade dos embriões (graus 1 e 2) e aqueles transferidos à fresco resultaram em taxas de sobrevivência superiores quando comparados aos transferidos após serem congelados-descongelados.

Palavras-chaves: transferência de embrião, ovinos, receptoras

OLIVEIRA, T.M. Qualitative and Quantitative parameters in recipient selecting of ewe embryos transfers programs. Botucatu, 2009. Thesis (Master) - 69p -Faculty of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Campus of Botucatu, University of São Paulo State – UNESP.

Abstract

The objective was to evaluate qualitative and quantitative parameters related to recipient and ovulated embryo and their relationship with the rates of embryo survival. The parameters used were: age, weight, body mass index, body condition score, number of corpus luteum at the time of embryo transfer, an aspect of corpus luteum, plasma progesterone concentration, interval between the end of the treatment and early signs of estrus and estrus length of the recipient. The embryos were evaluated for stage of development, quality, number of embryos ovulated and state, frozen or fresh. Were used 90 embryos of Santa Inês and Dorper, ovulated on recipeint synchronized with sponge impregnated with 60 mg medroxyprogesterone acetate for 14 days, added to an administration of 400 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG) at the time of sponge removal. Recipient with higher level of body condition score and higher plasma progesterone concentration showed better embryo survival rate and between these two factors is a positive correlation. The other variables related to the recipient did not influence significantly the embryo survival rate. The stage of embryonic development influence upon the embryo survival rate, however, embryos of grades 1 and 2 did not differ in these rates. The fresh embryos had higher survival rates when compared to frozen-thawed embryos.

Key-words: embryo transfer, ewe, recipients.

1. Introdução

Em 2007, segundo dados do IBGE, o rebanho de ovinos no Brasil correspondia a 16.239.455 cabeças, ocupando posição entre os dez maiores rebanhos do mundo.

Os programas de transferência de embriões, uma associação de diversas biotécnicas da reprodução, através da maximização aproveitamento reprodutivo da fêmea, têm se consolidado em nosso país por possibilitar a disseminação acelerada de animais geneticamente superiores, além de permitir a redução do intervalo entre gerações. Contudo, o pleno aproveitamento deste potencial depende da maximização do número de progênies nascidas de fêmeas de alto mérito (BARI et al., 2003). A redução dos custos em qualquer estadio da produção dos embriões, possibilitaria um aumento no uso da técnica e do ganho genético (BARIL et al., 2001) uma vez que a questão econômica é um fator limitante ao seu emprego.

Segundo Sreenan e Diskin (1987) a taxa de sobrevivência embrionária após a transferência de embriões pode ser influenciada por fatores como anormalidades cromossômicas, efeito da doadora, idade e qualidade dos embriões transferidos, método e local da transferência, sincronia doadora - receptora, estado nutricional e concentrações séricas de progesterona na receptora no momento da inovulação.

Na vaca, ovelha e cabra fatores específicos tanto aos embriões quanto às receptoras têm sido sugeridos, por influenciarem a sobrevivência dos embriões transferidos. Entre eles, têm sido relatados: estadio de desenvolvimento embrionário, qualidade do embrião, número de corpos lúteos e idade e número de parições das receptoras (HASLER et al., 1987; LOONEY et al., 1984; ALABART et al., 1995; ARMSTRONG e EVANS, 1983; ARMSTRONG et al., 1983).

Evidências sugerem que o correto preparo sanitário, nutricional e o manejo pré e pós-inovulações das receptoras podem ser responsáveis por até 50% do sucesso na sobrevivência embrionária. Em caprinos e ovinos a taxa de ovulação das receptoras foi um fator determinante no desempenho reprodutivo,

que é altamente dependente da condição corporal, consequentemente, do aporte nutricional (GONZALEZ et al., 2003).

A maior sobrevivência embrionária está diretamente relacionada à quantidade e qualidade dos corpos lúteos produzidos por doadoras e receptoras (ARMSTRONG et al., 1983). Além destes fatores, para que o programa tenha sucesso, é fundamental que os embriões, de boa qualidade, sejam transferidos a receptoras que se encontrem absolutamente sincrônizadas com as doadoras, quanto ao dia e momento de manifestação do estro (VIEIRA et al., 2002; TRALDI, 2006).

Fator determinante para utilização das receptoras, com seu ciclo sincronizado com o das doadoras, foi a presença do corpo lúteo (CL), sendo este indicativo de ovulação anterior (VIEIRA et al., 2002). A progesterona (P4) produzida pelo CL, tem um papel vital no desenvolvimento embrionário inicial, implantação e manutenção da gestação. Suas concentrações plasmáticas nas estão relacionadas ao número de ovulações ou CL(s) na ovelha (ASHWORTH et al., 1989).

Estas concentrações plasmáticas de P4 podem ser afetadas por um distúrbio conhecido como regressão prematura do CL, caracterizado pela diminuição da longevidade deste. Foi demonstrado que em ovelhas, altos níveis de estradiol afetam diretamente as concentrações de receptores de ocitocina no endométrio e consequentemente liberação de $PGF_{2\alpha}$ em resposta a ocitocina (BEARD et al., 1994).

2. Revisão de Literatura

2.1 Características Morfométricas e Peso Corporal

O peso corporal em ovinos é visto como uma medida indireta e pouco eficaz para avaliar-se o estado nutricional, devido às diferentes raças com presença ou não de lã, aos tipos de gestações e ao estado do animal (BOUCINHAS et al., 2006). Com isso alguns trabalhos têm utilizado a avaliação da condição corporal (CC) como um método eficaz e simples para se obter o

estado nutricional do rebanho (GUNN et al. 1984, THOMPSON & MEYER, 2009).

A aplicação do índice de massa corporal (IMC) através do uso da equação: IMC=peso.[(AC.100⁻¹)(CEI.100⁻¹)]⁻¹, sendo AC a altura da cernelha e CEI o comprimento do esterno à tuberosidade isquiática, foi uma alternativa mais objetiva e não menos efetiva de representação do estado corporal animal (RIBEIRO et al., 2007).

Segundo Boucinhas et al. (2006) a condição corporal influenciou a taxa de ovulação e de acordo com McNeilly et al. (1987) isto ocorre pela alteração da concentração plasmática de hormônio folículo estimulante (FSH), que acabou afetando o número de folículos potencialmente ovulatórios crescendo além dos 4mm. De acordo com esta idéia, Kleemann et al. (2006) descreveram uma correlação positiva entre a taxa de ovulação e o peso vivo da ovelha e sua condição corporal, relatando que a manipulação destes dois parâmetros pela nutrição pode aperfeiçoar os ganhos com a eficiência reprodutiva. Para West et al. (1991) e Abecia *et al.* (1997), isto traduz-se no fato do sucesso embrionário também depender da condição corporal da fêmea na época da cobertura.

Na mesma linha de raciocínio, Adams e Ritar (1986) observaram que há relação entre características corpóreas e a concentração de receptores de estrógeno na hipófise de ovelhas, e que isto pode influenciar no mecanismo pelo qual o peso vivo e a taxa de ovulação se interelacionam.

Para o desenvolvimento púbere normal e a continuidade da capacidade reprodutiva na vida adulta, adequado estoque de energia foi pré-requisito essencial (BURCELIN *et al.*, 2003). O estado metabólico dependeu da quantidade de alimento consumido, da quantia de reservas corpóreas e da taxa de consumo de energia. Mudanças em qualquer destes três componentes podem influenciar na capacidade reprodutiva (ZANGH *et al.*, 2005).

Além disso, a baixa condição corporal materna pode levar a um crescimento fetal assimétrico no terço médio da gestação e a uma alteração no peso fetal, produzindo potencialmente implicações na saúde da vida pós-natal destes cordeiros (OSGERBY *et al.* 2002). Segundo Nancarrow (1994),

embriões de ovelhas com condição corporal baixa no momento da fecundação e no decorrer da gestação estão mais sujeitos à mortalidade embrionária precoce.

As correlações genéticas e fenotípicas entre peso corporal e outras medidas corporais lineares foram elevadas e positivas, significando que os genes semelhantes estão controlando todos eles e, assim, a seleção de um levaria a efeitos positivos e correlacionados do outro (ABDULLAH e OLUTOGUN, 2006).

Experimento realizado por Santana et. al. (2001) com 28 ovinos da raça Santa Inês, os coeficientes de correlações encontrados entre peso corporal e as medidas de perímetro torácico e comprimento corporal indicaram que as mesmas estão altamente correlacionadas. Já para os coeficientes entre a altura da cernelha e da garupa mostraram correlações mais baixas que as encontradas em relação aos pesos corporais, perímetro torácico e comprimento corporal. Ojedapo et. al. (2007) também encontraram em fêmeas caprinas de diferentes idades, correlação entre mensurações corporais e peso vivo dos animais.

Nos resultados encontrados por Dantas et. al. (2008) houve correlação entre as variáveis pesquisadas, demonstrando a íntima ligação entre circunferência torácica e peso corporal. Os resultados indicaram que a circunferência torácica explica 70% do peso corporal dos bodes.

Daí a necessidade de estudar os parâmetros quali-quantitativos como idade, peso e escore corporal, índice de massa corpórea, tempo de duração do estro, intervalo entre o fim do tratamento hormonal e o início do estro, número de corpos lúteos e características do útero e ovários das receptoras, além de características inerentes ao embrião, na seleção de receptoras em programas de transferência de embriões ovinos.

2.2 Exame ultrassonográfico

A ultrassonografia tem se mostrado uma ferramenta útil no estudo dos eventos reprodutivos, bem como no monitoramento da dinâmica folicular, gestação e alterações uterinas nos pequenos ruminantes (LOPES JÚNIOR, 2004; ALI et al., 2006; ROMANO e CHRISTIANS, 2008). Entretanto a técnica ainda tem uso restrito em nosso país, principalmente no que diz respeito às alterações uterinas e seu diagnóstico.

A probe linear de 5,0 ou 7,5 MHz é indicada para o exame transretal (BICUDO, 2009). Tem sido utilizada com muita eficiência na avaliação da dinâmica folicular (DUGGAVATHI et al., 2003; RUBIANES e MENCHACA, 2003; ALI et al., 2006), no diagnóstico precoce de gestação, permitindo a identificação de evidências de gestação entre 16 e 20 dias após a cobertura (ROMANO e CHRISTIANS, 2008; BICUDO, 2009), na sexagem fetal (SANTOS et al., 2007; SANTOS et al., 2008), no diagnóstico de alterações uterinas (HESSELINK, 1993; LOPES n JÚNIOR, 2004) e no acompanhamento da involução uterina (ABABNEH e DEGEFA, 2005; HAYDER e ALI, 2008) nos pequenos ruminantes.

As características da involução uterina têm sido extensivamente estudadas com o uso da ultrassonografia em outras espécies, como nos equinos (GRIFFIN e GINTHER, 1992), assim como na vaca (OKANO e TOMIZUKA, 1987) e em cadelas (YEAGER e CONCANNON, 1990). Nos pequenos ruminantes, a ultrassonografia é rotineiramente utilizada no diagnóstico de gestação, porém, também forneceu uma alternativa não invasiva de imagens diretas, "in vivo", dos órgãos reprodutivos internos e caracterização de eventos reprodutivos de importância econômica (GRIFFIN e GINTHER, 1992). Experimento realizado por Ababneh e Degefa (2005) examinou a acurácia da ultrassonografia na avaliação da involução uterina pela união dos resultados da mensuração ultrassonográfica "in vivo" com os achados macroscópicos do mesmo trato genital após o abate. A estreita associação entre as imagens do ultrassom e as mensurações físicas indicou a utilidade da técnica em questão para o estudo da involução uterina. A

utilização desta técnica para avaliar a regressão uterina ainda é pouco empregada.

Assim como os distúrbios na involução uterina, existem alterações reprodutivas, como a hidrometra e a piometra, que também podem prejudicar a performance reprodutiva das fêmeas caprinas e ovinas.

O diagnóstico pode ser baseado nos sinais clínicos (dilatação abdominal e ausência de estro) e confirmado com segurança por ultrassonografia (BATISTA, 2001; HESSELINK et al., 1995; LOPES JUNIOR et al., 2004). Devido à semelhança da imagem ultrassonográfica entre a hidrometra, em processo inicial, e um útero gravídico, a recomendação é de que o exame seja realizado após 40 dias de gestação, quando a presença de placentomas e do feto será o diferencial entre os dois casos (HESSELINK, 1993; HESSELINK et al., 1995; PIETERSE e TAVERNE,1986). Estes mesmos autores recomendam, ainda, a repetição do exame, já que mesmo após tratamento o líquido intrauterino pode continuar a ser observado.

2.3 Intervalo entre o final do tratamento hormonal e início do estro e duração do estro

O estro varia de 20 a 36 horas, com média de 26 horas (PINEDA, 1989; LINDSAY, 1991; JAINUDEEN e HAFEZ, 1993). A ovulação é espontânea e ocorre no final do estro, cerca de 24-27 horas após o início. Ovulações duplas e triplas são comuns, e estas ocorrem dentro de duas horas após a primeira ovulação (Lindsay, 1991).

A sincronização do estro é extensivamente aplicada no manejo reprodutivo da ovelha nos rebanhos pelo mundo. Tratamentos com pessários intravaginais impregnados com progesterona, acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou acetato de fluorogestona (FGA), ou implantes contendo norgestomet, por um período de 10-16 dias tem sido usados com sucesso para sincronização do estro nas ovelhas, durante a estação reprodutiva ou fora dela (ROBERTS e HAFEZ, 1969; AINSWORTH e WOLYNETZ, 1982; JABBAR et al., 1994; STELLFLUG et al., 1994; HAYATU et al. 2009).

Boscos et al. (2002) obtiveram, em ovelhas sincronizadas no início da estação reprodutiva com MAP por 12 dias mais 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) na retirada da esponja, 33% dos animais em cio entre 2-4 dias após a retirada do implante. Em ovelhas submetidas ao mesmo tratamento no meio da estação reprodutiva o resultado foi de 92,5% de fêmeas em estro no período de 2-4 dias após a retirada da esponja.

Fonseca *et al.* (2005) encontraram em cabras leiteiras um intervalo médio de 48.0 ± 9.4 h entre a administração da eCG, feita 24h antes da retirada da esponja impregnada com acetato de medroxiprogesterona (MAP), e o início do estro, resultado similar aos encontrados por Baril *et al.* (1996) e Ahmed *et al.* (1998).

Segundo Baril *et al.* (1996) e Rubianes *et al.* (1998), em cabras, a fertilidade foi menor quando o intervalo entre a retirada do pessário e a ovulação foi superior a 30 horas. Esses autores relataram que a redução está possivelmente relacionada à presença de anticorpos anti-eCG.

Para Cline *et al.* (2001), que trabalharam com implantes de norgestomet em ovelhas durante 10 dias com uma aplicação de eCG no momento da retirada do implante, o início do estro ocorreu em média após 36h da retirada. Também foi relatado por Kridli e Al-Khetib (2006) que ovelhas sincronizadas com pessários impregnados com FGA durante 10 dias e com uma única dose de eCG no momento da retirada das esponjas, apresentaram estro cerca de 34 ± 8h após o término do tratamento. De acordo com Dias et al. (2001), sincronizando o estro de 86 ovelhas deslanadas através de esponjas vaginais impregnadas com FGA durante 12 dias somada a uma aplicação de 200UI ou 400UI na retirada da esponja, os intervalos entre o final do tratamento e o início do estro foram de 45,9 ± 7,8 e 40,4 ± 10,3, respectivamente.

Em um experimento realizado com ovelhas Suffolk, tratadas com esponjas impregnadas com 750 mg de progesterona durante 14 dias e eCG (500UI) dois dias antes da retirada da esponja, divididas em três grupos em estações diferentes do ano, a média do intervalo entre o final do tratamento e o início do estro foi de $25,5 \pm 4,1$ h na primavera, $23,6 \pm 4,0$ h no verão e $22,3 \pm 4,1$

6,4 no outono e a duração do estro foi de $19,3 \pm 4,4$ h, $23,6 \pm 2,8$ h e $27,6 \pm 8,3$ h respectivamente (KUSAKARI *et al.*, 1995).

No trabalho executado por Cline et al. (2001), usando implantes de norgestomet as ovelhas ovularam em média 75,6h após a remoção do implante.

Segundo Souza et al. (1994) o pico de LH em ovelhas ocorreu dentro de 4-8h do início do estro. O pico de LH após o tratamento com P4 e eCG aconteceu em 45 ± 0.9 h e a ovulação 66.0 ± 0.7 h após a retirada da esponja.

2.4 Atividade Luteal

O estabelecimento da gestação envolve complexa integração entre o embrião, ambiente uterino e o corpo lúteo (SREENAN e DISKIN, 1987; MANN et al., 1999). A progesterona provoca modificações no ambiente uterino, influenciando o crescimento e desenvolvimento do concepto (GEISERT et al., 1992)

A progesterona é importante no controle do mecanismo de luteólise, por inibir o desenvolvimento de receptores endometriais para a ocitocina (VALLET e LAMMING, 1991; LAU et al., 1992). Em fêmeas com baixa concentração de progesterona, esta inibição é menos efetiva (LAMMING e MANN, 1993) e o mecanismo luteolítico desenvolve-se antecipadamente, proporcionando menor tempo para o embrião tornar-se capaz de bloquear a luteólise.

O diestro ou fase lútea é a dominante no ciclo estral, e dura 12 a 14 dias na ovelha. Embriões viáveis devem estar presentes no útero até o dia 13 do diestro para fornecer sinal luteotrópico (PINEDA, 1989). Se não há embriões viáveis presentes, o corpo lúteo regride rapidamente sob a influência da $PGF_{2\alpha}$, e a ovelha inicia outro ciclo (ZARCO et al., 1988). Este processo repete-se durante subseqüentes ciclos até o final da estação reprodutiva, se a ovelha não se tornar prenhe (SASA et al., 2002).

De acordo com Minton et al. (1990), valores plasmáticos de progesterona inferiores a 1 ng/mL podem caracterizar as fases de estro ou de

anestro, enquanto valores superiores a 3 ng/mL caracterizam a fase de diestro (luteal) ou gestação. A fase de anestro diferencia-se da fase de estro quando as concentrações de progesterona permanecem baixas por um período superior a 10 dias (SASA et al., 2002).

A concentração de progesterona plasmática nas receptoras foi relacionada ao número de ovulações ou corpos lúteos em ovelhas (Ashworth et al., 1989). A sobrevivência embrionária tem sido relatada por aumentar com a concentração de progesterona plasmática em vacas (Hasler et al., 1980, Remsen et al., 1982) e o número de corpos lúteos em cabras (Armstrong et al., 1983), e há evidências de uma variação considerável na secreção de progesterona durante sucessivas gestações em ovelhas (Ashworth et al., 1989), o que indica que é possível que idade e parição da ovelha receptora também podem afetar a sobrevivência embrionária.

Segundo Vasconcelos (2000; 2001) e Baruselli (2000), em fêmeas bovinas, corpos lúteos (CLs) maiores irão secretar mais progesterona (P4) e isto consequentemente terá um efeito positivo no reconhecimento da gestação tanto na inseminação artificial quando nos programas de transferência de embriões. Contudo, Spell et al. (2001) não observaram diferenças no tamanho do corpo lúteo (CL) ou concentração de P4 plasmática entre receptoras que ficaram ou não prenhes após a transferência de embrião.

Durante todo o período estudado por Sasa et al. (2002), em região localizada na latitude 21°59' Sul e longitude 47°26' oeste, as borregas da raça Santa Inês (SI) encontravam-se em atividade cíclica reprodutiva apresentando valores de progesterona que variaram de 0,08 a 7,36 ng/mL ao longo do ciclo estral. As fêmeas das raças Romney Marsh (RM) e Suffolk (SU) encontravam-se em atividade reprodutiva somente no período de abril a julho com valores plasmáticos que variaram de 0,13 a 7,05 ng/mL e de 0,15 a 7,30 ng/mL, respectivamente. No período de agosto a novembro, os valores oscilaram de 0,06 a 0,43 ng/mL para RM e 0,10 a 0,47 ng/mL para SU caracterizando que as fêmeas de ambas as raças encontravam-se em anestro.

2.5 Fatores relacionados ao embrião

O efeito do estadio de desenvolvimento embrionário na subsequente sobrevivência do embrião tem sido investigada em vacas e ovelhas. Enquanto alguns desses estudos indicaram alta taxa de sobrevivência para blastocistos comparados à mórula (ARMSTRONG e EVANS, 1983; LOONEY et al., 1984; DONALDSON, 1985; HASLER et al., 1987), outros falharam em demonstrar qualquer diferença (SHEA, 1981; LINDNER e WRIGHT Jr, 1983; MARKETTE et al., 1985; THOMPSON et al., 1995).

A taxa de prenhez em vacas tem sido relatada por aumentar conforme a melhoria da qualidade do embrião (DONALDSON, 1985, BREUEL et al., 1991). Entretanto, esta não parece ser uma associação especialmente precisa desde que em outro estudo não houve diferença significativa na taxa de sobrevivência dos embriões de Graus 1 e 2, ou de embriões de Graus 3 e 4 (SREENAN e DISKIN, 1987). Similarmente, em ovelhas não houve diferença na taxa de sobrevivência entre embriões classificados como "bom" e "excelente" no momento da transferência (ALABART et al., 1995).

Para Hasler (2001) na transferência de embriões tanto frescos quanto descongelados houve diferença significativa nos índices de prenhez para embriões de graus diferentes de qualidade na espécie bovina. Quando embriões de mesmo estadio de desenvolvimento e qualidade foram comparados, os índices de prenhez não diferiram de maneira significativa.

3. Objetivos

Objetivo Geral:

- Avaliar parâmetros qualitativos e quantitativos empregados na seleção de receptoras de embriões ovinos visando relacioná-los à performance de sobrevivência embrionária pós-inovulação.

Objetivos Específicos:

- Relacionar os índices de prenhez com idade do animal;
- Avaliar a possível correlação da condição corporal com índices de prenhez das receptoras de embrião
- Avaliar as características de útero e ovários de ovelhas receptoras de embriões:
- Mensurar o tempo decorrido entre a retirada da esponja/aplicação do eCG e o início do estro e sua duração;
- Avaliar o número de corpos lúteos (CLs) e a qualidade destes no ato da inovulação;
- Quantificar a concentração de progesterona P4 plasmática;
- Avaliar a taxa de concepção/prenhez e correlacioná-la com os parâmetros estudados.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento Experimental

4.1.1 Local de realização do experimento

O experimento foi realizado em diversas propriedades rurais, no estado de São Paulo, situadas nos municípios de Tietê (23º06' de latitude sul e a 47º42' de longitude oeste), Botucatu (22° 53' de latitude sul e a 48° 26' de longitude oeste), Avaí (22° 08' de latitude sul e 49° 19' de longitude oeste) e Colina (20° 42' de latitude sul e 48° 32' de longitude oeste). O período de realização do experimento se estendeu de Janeiro de 2008 a Fevereiro de 2009.

4.1.2 Animais

Foram utilizadas 13 ovelhas nulíparas e pluríparas com idade entre 2 e 5 anos das raças Santa Inês e Dorper como doadoras e outras 90 com idade entre 12 e 48 meses, em sua grande maioria Santa Inês ou ½ sangue Santa Inês e uma pequena parcela de fêmeas da raça Lacaune, como receptoras.

4.1.3 Avaliação ultrassonográfica

Para os exames ultrassonográficos foi utilizado equipamento SSD (Aloka®) com transdutor prostático linear de 7,5 MHz (Aloka®).

Antes do início do tratamento hormonal e continuidade do trabalho, todas as receptoras foram avaliadas por meio de ultrassonografia transretal com o intuito de detectar normalidade do genital e exclusão de possível gestação. Apenas as receptoras que não apresentaram alterações detectáveis do genital ao exame ultrassonográfico foram inseridas no experimento.

A constatação da prenhez das receptoras após a inovulação foi feita por ultrassonografia. O diagnóstico de gestação das receptoras foi realizado em torno dos 30 dias e repetido aos 60 dias após a inseminação artificial (IA) das doadoras.

4.1.4 Avaliação morfométrica, de escore, peso corporal e idade do animal

Antes do início do tratamento hormonal foram realizadas as avaliações biométricas dos animais. As aferições foram realizadas com a fêmea em posição quadrupedal, por meio do uso de um paquímetro, verificando-se as medidas de altura de cernelha (AC) e comprimento esterno isquiático (CEI) em centímetros (cm).

Foi aferido o peso corporal do animal, em quilogramas (kg), para que o Índice de Massa Corpórea (IMC) pudesse ser calculado pela da fórmula:

IMC = Peso x
$$[(AC \times 100^{-1}) \times (CEI \times 100^{-1})]^{-1}$$

sendo o peso expresso em kg e AC e CEI expressos em cm (Adaptado de BICUDO et al., 1995).

A avaliação da condição corporal foi realizada de acordo com o método proposto por Thompson e Meyer (2009) utilizando-se uma escala de 1 a 5.

Como algumas propriedades utilizadas no experimento não dispunham de escrituração do controle reprodutivo quanto à data de nascimento das receptoras, a idade, foi estimada por meio da avaliação da dentição destas. A classificação foi realizada de acordo com o número de pares de dentes permanentes que os animais apresentavam no momento da avaliação, de acordo com o método proposto por Yami et al. (2009), onde sugere-se que um animal sem nenhum par de dentes permanentes possui idade inferior a 12 meses; com um par de dentes permanentes apresentava idade entre 12 e 18 meses; com dois pares a idade equivalente de 18 a 24 meses, três pares a idade entre 30 e 36 meses e com quatro pares de dentes permanentes idade superior a três anos.

4.1.5 Protocolos hormonais

O protocolo de superovulação das doadoras se constituiu na colocação (dia 0) de dispositivo intravaginal com progesterona (CIDR® Pfizer Saúde Animal), que foi trocado por outro dispositivo igual após sete dias, e neste momento foi aplicada uma dose de 100 µg de cloprostenol (Ciosin® Schering-Plough Coopers). No dia 12 do tratamento, deu-se início ao tratamento superovulatório com hormônio folículo estimulante (FSH) (Folltropin® Bioniche Animal Health) que se estendeu por 4 dias. No dia 14 o dispositivo intravaginal foi removido e 200 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) (NOVORMON 5000® Syntex S.A) foram administradas.

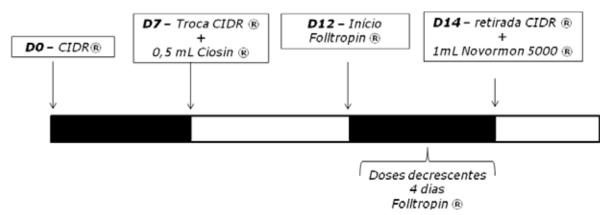


Figura 1. Protocolo de Sincronização do estro e Superovulação das doadoras*

Todas as receptoras foram submetidas ao tratamento hormonal para sincronização do cio, iniciado no mesmo dia em que se iniciou o tratamento nas doadoras. O tratamento nas receptoras constituiu-se na inserção de esponja impregnada com 60 mg acetato de medroxiprogesterona (PROGESPON® Syntex S.A.) por 14 dias, somado a uma aplicação de 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) (NOVORMON 5000® Syntex S.A) no momento da na retirada da esponja.

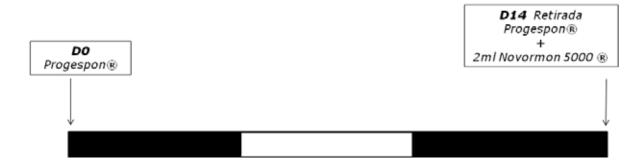


Figura 2. Protocolo de Sincronização do estro das receptoras

4.1.6 Detecção do estro

Tanto nas doadoras quanto nas receptoras o estro foi detectado com a utilização de reprodutores utilizando um avental no abdômen que impossibilitava a cobertura ou então com rufiões vasectomizados quando disponíveis na propriedade.

A verificação do estro nas receptoras iniciou-se 24h após a retirada das esponjas e teve duração de aproximadamente 3 dias.

^{*} Comunicação pessoal de Leandro Rodello e Sony Dimas Bicudo, em 10 de Janeiro de 2008.

4.1.7 Inseminação artificial e colheita dos embriões

A inseminação artificial (IA) nas doadoras foi realizada por laparoscopia no dia 16 após o início do protocolo, sendo efetuados dois procedimentos no mesmo dia, um pela manhã e outro no período da tarde. De acordo com a conveniência da propriedade, algumas doadoras foram inseminadas com sêmen congelado e outras com sêmen fresco, avaliados quanto sua qualidade antes da IA. Os embriões foram colhidos cirurgicamente no dia seis (06) após a IA, conforme citado por Bari et al. (2003), como o mais utilizado em trabalhos publicados sobre o assunto, bem como na prática comercial.

4.1.8 Inovulação das receptoras

Os embriões colhidos foram avaliados quanto ao estadio de desenvolvimento e grau de qualidade segundo a IETS (1998). Quando congelados, os embriões foram descongelados pelo método clássico lento em meio contendo sucrose 0,5M (Encare ICP®, Nova Zelândia) acrescido de etilenoglicol a 0,75M (Encare ICP®, Nova Zelândia), durante 5 minutos, sendo depois transferidos para o meio de manutenção constituído por albumina sérica bovina (BSA) a 4% (Holding Encare ICP®, Nova Zelândia).

Após a avaliação foram inovulados pela técnica da semi-laparoscopia nas receptoras que haviam apresentado estro. O corno uterino escolhido, por laparoscopia, foi o ipsilateral ao ovário com a maior quantidade e/ou melhor qualidade dos corpos lúteos (CLs). O parâmetro decisivo para inovulação era o aspecto dos corpos lúteos visualizados por laparoscopia previamente à inovulação. Foi estipulado, de maneira subjetiva, uma classificação com três escores para esta variável, sendo escore 3 para um corpo lúteo com ótimo aspecto macroscópico de coloração (avermelhada, indicando vascularização) e tamanho, 2 para um corpo lúteo de bom aspecto (coloração ainda avermelhada) e escore 1 para aqueles que apresentavam coloração amarelada, pálida e tamanho reduzido, sinalizando uma possível regressão da estrutura, sendo que, nesses casos, a inovulação não foi realizada.

4.1.9 Quantificação da progesterona plasmática P4

Para realização desta etapa foram realizadas, no dia da inovulação dos embriões, colheitas de sangue das receptoras por meio da venopunção jugular, em tubos heparinizados, mantidos sob refrigeração até o momento de centrifugação a 1200 g por dez minutos. O plasma foi armazenado a -20°C para posterior quantificação hormonal.

As quantificações de progesterona foram realizadas por radioimunoensaio em fase sólida utilizando-se *kits* comerciais (DPC® – Diagnostic Products Corporations) seguindo-se as recomendações do fabricante, sendo a leitura efetivada em um sistema automatizado de medida gamma (Gamma Count mod.5500, Beckman- USA).

4.2 Análise Estatística

Para o estudo da comparação dos grupos de diagnóstico foi utilizado o teste não paramétrico de Mann Withney quando a variável apresentou ausência da característica de normalidade e o teste t de Student para amostras independentes quando a variável resposta mostrou-se com aderência à distribuição normal de probabilidades (ZARR, 1999).

Para estudo das associações entre as variáveis "nominais" e a taxa de concepção foi utilizado o Teste de Associação de Goodman para contrastes entre e dentro de populações multinominais (Goodman, 1964 e 1965).

Para a associação entre variáveis quantitativas utilizou-se o coeficiente de correlação dos postos de Spearman onde indicou-se o valor da associação com o respectivo nível descritivo do teste (ZARR, 1999).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise dos resultados obtidos não houve diferença (P>0,05) de idade nos grupos de receptoras que mantiveram ou não ou não a gestação até o momento do diagnóstico realizado aos 60 dias pós-inovulação.

Da mesma forma constata-se que as medidas das demais variáveis apontadas na **Tabela 1**, submetidas ao Teste de Mann-Whitney, também não diferiram (P>0,05) quando se compara os dois agrupamentos de receptoras (prenhes e não prenhes) sessenta dias após as inovulações.

Tabela 1: Mediana (valores mínimos e máximos) das variáveis segundo diagnóstico de gestação (sobrevivência embrionária) realizado aos 30 e 60 dias em freceptoras de embriões ovinos.

VARIÁVEL	Diagnóstico de gestação		
VARIAVEL	Não Prenhe	Prenhe (n=28)	
Idade (ano)	5,0 (1,0– 8,0)	4,0 (1,0-8,0)	
Intervalo retirada esponja-cio (h)	42,0 (18,0-66,0)	36,0 (18,0-54,0)	
Duração do cio (h)	36 ,0 (12,0-60,0)	36,0 (24,0-48,0)	
Número de CL E	1,0 (0,0-3,0)	1,0 (0,0-4,0)	
Número CL D	1,0 (0,0-3,0)	1,0 (0,0-2,0)	
Qualidade CL E (1 a 3)	2,0 (1,0-3,0)	3,0 (1,0-3,0)	
Qualidade CL D (1 a 3)	3,0 (1,0-3,0)	3,0 (1,0-3,0)	

Teste Mann-Whitney P > 0,05; CL E= corpo lúteo ovário esquerdo, CL D= corpo lúteo ovário esquerdo

Bari et al. (2003), compararam, em seu experimento, a taxa de sobrevivência embrionária em receptoras de mesma raça e foi significativa a diferença quando embriões de Grau 1 foram inovulados em receptoras com um corpo lúteo (71,6%) ou em receptoras com dois corpos lúteos (78,7%). Comparando os embriões de Grau 3, houve também diferença significativa na taxa de sobrevivência entre aqueles inovulados em receptoras com dois corpos lúteos (50,9%) e embriões inovulados em receptoras com tres ou mais corpos lúteos (82,3%). Os próprios autores relataram que estes efeitos não foram consistentes já que quando comparados os resultados na totalidade dos embriões inovulados, de vários graus de qualidade, as taxas de sobrevivência

embrionária não apresentaram diferença estatística em receptoras que apresentaram 1, 2, 3 ou mais corpos lúteos no momento da inovulação. Estes resultados estão de acordo com os obtidos no presente trabalho, onde o número de corpos lúteos nas receptoras, assim como a qualidade destes, não influenciaram significativamente a taxa de sobrevivência dos embriões.

Resultados obtidos por Armstrong et al. (1983), em cabras, relatam que taxas significantemente altas na sobrevivência embrionária foram observadas em receptoras com dois, três ou mais corpos lúteos comparados com aquelas com apenas um corpo lúteo. A diferença existente entre espécies não é muito clara, entretanto, pode indicar que, no presente estudo, a concentração de progesterona sustentada por apenas um corpo lúteo foi suficiente para o crescimento, desenvolvimento e implantação embrionária, conforme apontado por Bari et al. (2003). Estas dados são consistentes com o relatado também para vacas, para as quais um nível plasmático mínimo de progesterona (5-8 ng/mL) é requerido para a sobrevivência embrionária em receptoras (NIEMANN et al., 1985; NORTHEY et al., 1985; REMSEN et al., 1982).

Bari et al. (2003) encontraram taxa de sobrevivência embrionária de 77,1%, 69,5% e 78,5% em ovelhas receptoras de 1, 4 e 6 anos, respectivamente. Para Alabart et al. (2003), que trabalhou com receptoras com idade entre 2 e 5 anos, o fato de receptoras mais jovens terem fertilidade mais alta, poderia ser explicado pelo fato de que ovelhas jovens provavelmente sofreram menos problemas de saúde. Similarmente, o uso de vacas jovens como receptoras tem sido aconselhado (BROADBENT, 1992). Um declínio da fertilidade com o aumento da idade tem sido relatado em ovelhas (COLAS et al., 1973; GABIÑA e FOLCH, 1987) assim como em vacas receptoras (YANG et al., 1993). No presente, a variação da idade das receptoras, entre 12 e 48 meses, não apresentou diferença significativa nas taxas de prenhez.

Para Alabart et al. (1995) o intervalo do último parto e a prolificidade das receptoras, em um programa de transferência de embriões ovinos, são melhores preditores do desempenho reprodutivo destas do que as variáveis peso e condição corporal, que não influenciarem significativamente seus resultados.

Na **Tabela 2** aponta-se o número de embriões transferidos de acordo com seu estadio de desenvolvimento, o número e a porcentagem de embriões que sobreviveram e a porcentagem mínima e máxima de embriões transferidos que probabilisticamente podem sobreviver segundo o seu estadio de desenvolvimento.

Dos 59 embriões transferidos no estadio de mórula somente 15 sobreviveram, avaliando-se pelo intervalo de confiança (95%) estabelecido, a probabilidade mínima de sobrevivência de embriões transferidos nesse estadio de desenvolvimento é de 14,3% e a probabilidade máxima de 36,53%.

Quanto aos 22 embriões transferidos no estadio de blastocisto, dez sobreviveram e nesse caso a porcentagem mínima de sobrevivência sobe para 24,65% e a máxima para 66,27%.

Já dos seis embriões transferidos no estadio de blastocisto expandido, três sobreviveram, sendo que a porcentagem mínima de sobrevivência embrionária passa a ser de 10% enquanto a probabilidade máxima de sobrevivência dos embriões transferidos nesse estágio é de 90%, diferindo significativamente dos demais estadios de desenvolvimento embrionário.

Após a avaliação dos dados encontrados, pode-se sugerir que o estadio de desenvolvimento embrionário influencia na taxa de sobrevivência embrionária, sendo que, nas nossas condições experimentais, o estadio de blastocisto expandido obteve melhores resultados frente aos demais (intervalo de confianca de 95%).

Tabela 2: Porcentagens e limites de confiança da taxa de sobrevivência embrionária 60 dias pós-inovulação de embriões em diferentes estadios de desenvolvimento em receptoras de embriões ovinos.

ESTADIO	Sobrevivência sobreviventes/transferidos (%)	IC% (sobrevivência)
Mórula	15/59 (25,4)	14,3 a 36,5
Blastocisto inicial	0/3 (0,0)	0
Blastocisto	10/22 (45,5)	24,7 a 66,3
Blastocisto expandido	3/6 (50,0) 10,0 a 90	
Total	28/90 (31,1)	

IC: intervalo de 95% de confiança para a proporção de embriões sobreviventes segundo o estadio de desenvolvimento.

Na **Tabela 3** demonstra-se que dos 90 embriões transferidos, 59 eram de grau 1, sendo que destes somente 18 sobreviveram (diagnóstico de gestação realizado aos 30 e 60 dias pós-IA das doadoras), a porcentagem mínima de sobrevivência foi de 18,76% e a probabilidade máxima foi de 42,26% de embriões desta qualidade sobreviverem após serem inovulados nas receptoras. Os outros 31 embriões transferidos eram de grau 2 e somente nove sobreviveram, sendo a probabilidade mínima de sobrevivência de 13,05% e a máxima de 45,01%. Nesse caso, não houve influência do grau do embrião inovulado sobre a taxa de sobrevivência embrionária pós-inovulação (P>0,05).

Tabela 3: Porcentagens e limites de confiança da taxa de sobrevivência embrionária segundo o grau de qualidade dos embriões transferidos a receptoras de embriões ovinos.

QÚALIDADE DO EMBRIÃO	Sobrevivência sobreviventes/transferidos (%)	IC% (sobrevivência)
Grau 1	18/59 (30,5)	18,8 a 42,3
Grau 2	9/31 (29,0)	13,1 a 45,0
Total	28/90 (31,1)	

IC: intervalo de 95% de confiança para a proporção de embriões sobreviventes segundo a qualidade.

No que diz respeito ao estadio de desenvolvimento embrionário os resultados do presente estudo são semelhantes aos descritos por Bari et al. (2003), onde as taxas de sobrevivência embrionária pós-inovulação de mórulas foi menor que de blastocistos, colhidos no dia 06. Os mesmo autores relatam, ainda, que não houve nenhuma diferença (P<0,05) na taxa de sobrevivência

entre os embriões de Grau 1 (75,6%) e 2 (73,8%), o que está de acordo com os resultados encontrados no presente estudo.

Em experimento realizado por Bari et al. (2003) a taxa de sobrevivência dos embriões, colhidos aos 5 ou 6 dias, transferidos nos estadios de mórula e blastocistos, quando agrupados por dia de colheita, não foi diferente. Estes resultados obtidos estão de acordo com aqueles de alguns estudos em vacas, ovelhas e porcas (POPE et al., 1986; COLEMAN et al., 1987; BREUEL et al., 1991). Contudo, estes dados contrastam com aqueles que indicam uma alta taxa de sobrevivência dos blastocistos comparados as das mórulas (ARMSTRONG e EVANS, 1983; DONALDSON, 1985; HASLER et al., 1987).

Bari et al. (2003), relatam que embriões de grau 3 e 4 toleram melhor a assincronia, do estro entre doadora e receptora, do que os embriões de grau 1 e 2, e que as mórulas iniciais toleram melhor esta assincronia do que os outros estadios.

Para Donaldson (1985) as taxas de prenhez diminuíram 23,6% entre os graus de qualidade 1 e 4, onde embriões de melhor qualidade de todos os estadios apresentaram as maiores taxas de sobrevivência. O autor concluiu que a correspondência de certas fases do embrião com a sincronia do estro entre doadoras e receptoras embora vantajosa, nem sempre é possível.

No trabalho de Bari et al. (2003) não houve diferença na taxa de sobrevivência entre embriões de Graus 1 e 2 (75,6% e 73,8%, respectivamente). Entretanto, conforme a qualidade do embrião declinou as diferenças se tornaram mais notáveis. Embriões de Grau 3 tiveram uma menor taxa de sobrevivência (61,4%) que os embriões de Graus 1 e 2, com uma redução mais notável na taxa de sobrevivência dos embriões de Grau 4 (37,5%), embora deva-se notar que o número de embriões de Grau 4 transferidos foi relativamente menor. Segundo os autores, devido a todos os embriões terem sido transferidos para receptoras com grau semelhante de sincronização de estro com as ovelhas doadoras, a melhor taxa de sobrevivência dos embriões de alto grau deve ser devida a sua melhor habilidade em ajustar ou alterar o ambiente uterino ao seu favor. Os autores concluiram que, de maneira geral, os resultados sugerem que todos os

embriões coletados em um programa de TE em ovelhas tem chances suficientemente altas para justificar suas transferências. Esses resultados são consistentes com aqueles obtidos em alguns estudos com vacas, onde a alta taxa de prenhez é observada com a melhor qualidade dos embriões (DONALDSON, 1985; BREUEL et al., 1991). Todos estes dados confrontam com os encontrados no presente estudo. Corroborando os resultados aqui obtidos existem outros estudos com vacas que não indicam relacionamento entre a qualidade do embrião e a sobrevivência subseqüente (LOONEY et al., 1984; MARKETTE et al., 1985).

Na **Tabela 4** apresenta-se as variáveis peso (kg), IMC (índice de massa corpórea), ECC (escore de condição corporal) e concentração plasmática de P4 agrupados de acordo com os resultados do diagnóstico de gestação. Não houve diferença significativa (p>0,05) para as variáveis peso (kg) e IMC para as condições das receptoras prenhas ou não prenhas. O peso médio ± desvio padrão das ovelhas que não ficaram prenhas foi de 48,8 ±6,6 kg, enquanto a média e desvio padrão das ovelhas que toranram-se prenhas foi 51 ±8,0. O IMC médio foi de 98,0 e desvio padrão de ±10,8 para ovelhas que não ficaram prenhas e média de 102,5 e desvio padrão de ±11,8 para as prenhas.

No entanto, ainda na **Tabela 4**, quando avaliou-se o ECC, a média 3,0±0,6 das ovelhas que mantiveram a gestação foi significativamente maior quando comparada à média (2,7±0,7) das ovelhas que não ficaram prenhas (P<0,05). O mesmo foi observado para a concentração plasmática de P4, avaliada no dia da inovulação, que a média foi significativamente maior nas ovelhas que ficaram prenhas (8,6±5,0) quando comparada à média (7,8±4,6) daquelas ovelhas receptoras que não mantiveram a gestação (P<0,05).

Tabela 4: Média e desvio padrão do peso, ECC, IMC e P4 de receptoras de embriões ovinos segundo diagnóstico de gestação realizado aos 30 e 60 dias.

VARIÁVEL	Diagnóstico de gestação		
VARIAVEL	Não Prenhe	Prenhe	
Peso (kg)	48,8±6,6	51,4±8,0	
ECC*	2,7±0,7	3,04±0,6	
IMC	98,0±10,8	102,5±11,8	
Progesterona plasmática (ng/mL)*	7,8±4,6	8,6±5,0	

^{*} P<0,05 Teste t de Student

Para Ashworth et al. (1989), em ovelhas, a probabilidade de um embrião sobreviver esta associada com a concentração de progesterona no dia em torno da ovulação, com o momento do aumento da concentração deste hormônio desde o periovulatório aos valores luteais, e com a taxa em que as concentrações de progesterona aumentaram. Em trabalho realizado na espécie bovina, Hasler et al. (1980) também relatam que a concentração sérica de progesterona nas receptoras que mantiveram a gestação foi significativamente superior à concentração nas receptoras não gestantes. Também em bovinos, outros autores relatam que concentrações mais elevadas de P4 estão associadas a maiores taxas de concepção em receptoras de embrião (MANN et al., 1999; MARQUES et al., 2002). Todos estes dados corroboram com os obtidos neste trabalho, onde as receptoras com maiores taxas de sobrevivência embrionária apresentaram também maiores concentrações de P4 plasmática que as ovelhas não gestantes.

Outro fator que pode influenciar no índice de prenhez, no momento da inovulação de receptoras, é a sua condição corporal (FUCK et al., 2002). Foi constatado que receptoras com condição corporal de entre 5 e 7 pontos reduziram o índice de descarte. Resultados assim foram obtidos por Elsden (1985) e Spitzer (1986), que observaram que as receptoras com condição corporal entre 5 e 7 apresentaram maior índice de manifestação de cio e, também, melhor resposta nos programas de sincronização, quando comparadas com animais entre 2 e 4 pontos de condição corporal. De acordo com esses autores, houve também um aumento no índice de prenhez.

Fuck et al. (2002) relatam que, em seu trabalho com receptoras bovinas, obtiveram-se índices altos de aproveitamento das receptoras (acima de 80%), possivelmente pela boa condição corporal, pois 83% dos animais foram classificados na condição corporal com 6 pontos, 7% com 5 pontos e 10% com 7 pontos. Todos estes dados estão de acordo com os encontrados no presente estudo, onde a média do ECC das ovelhas que mantiveram a gestação (3,03 ± 0,6) foi superior à média encontrada nas fêmeas que não o fizeram (2,7 ± 0,7).

Os resultados do diagnóstico de gestação quanto ao tipo de embrião inovulado, fresco ou congelado, estão na Tabela 5. Neste caso, não houve diferença significativa entre ovelhas prenhas e não prenhas avaliadas dentro de uma mesma condição (embrião fresco ou congelado). No entanto, quando avaliada a porcentagem de ovelhas inovuladas com embrião fresco que emprenharam (82,1%) com as que emprenharam com embrião congelado (17,9%), a chance das ovelhas tornarem-se prenhes recebendo embriões aquelas que frescos predominou sobre receberam os embriões criopreservados (P<0,05).

Tabela 5: Distribuição do tipo de embrião inovulado (fresco ou congelado) segundo diagnóstico de gestação (sobrevivência embrionária) realizado aos 30 e 60 dias em receptoras de embriões ovinos.

DIAGNÓSTICO DE	TIPO DE EMBRIÃO		
GESTAÇÃO	Fresco n=74	Congelado _{n=16}	
Não Prenhe n=62 (%)	51/62 (82,3) ^a	11/62 (17,7) ^b	
Prenhe n=28 (%)	23/28 (82,1) ^a	5/28 (17,9) ^b	

Proporções com diferentes letras sobrescritas nas linhas, diferem (P<0,05) pelo Teste de Goodman As proporções nas colunas não diferem (P>0,05) pelo Teste de Goodman

Em trabalho executado por Garcia-Garcia et al. (2006) com embriões ovinos congelados em seis diferentes estadios de desenvolvimento, a viabilidade dos embriões frescos (92,5%) esteve muito próxima da viabilidade apresentada para os embriões congelados (83,7%) no estadio de mórula. Estes dados contrastam com os encontrados no presente trabalho, embora o número

de embriões descongelados (16) tenha sido bem inferior ao número de embriões frescos (74) transferidos.

Corroborando com este estudo Niemann (1991), Říha et al. (1998) e Ambrose et al. (1999), encontraram, em seus trabalhos, taxa de prenhez superior para receptoras de embriões bovinos frescos quando comparados à receptoras inovuladas com embriões congelados-descongelados.

A **Tabela 6** apresenta as taxas de sobrevivência embrionárias distribuídas quanto ao número de embriões inovulados por receptora, um ou dois. Houve diferença significativa (P<0,05) nas ovelhas não prenhas que foram inovuladas com um (74,2%) ou dois embriões (25,8%). Houve também diferença significativa na prenhez (P<0,05), onde ovelhas que foram inovuladas com um embrião apresentaram a porcentagem de sobrevivência embrionária maior (82,1%) que as ovelhas que foram inovuladas com dois embriões (17,9%).

Tabela 6: Distribuição do número de embriões inovulados segundo diagnóstico de gestação (sobrevivência embrionária) realizado aos 30 e 60 dias em receptoras de embriões ovinos.

DIAGNÓSTICO DE	NÚMERO DE EMBRIÕES INOVULADOS		
GESTAÇÃO	Um (n=69)	Dois (n=21)	
Não Prenhe n=62 (%)	46/62 (74,2) ^a	16/62 (25,8) ^b	
Prenhe n=28 (%)	23/28 (82,1) ^a	5/28 (17,9) ^b	

Proporções com diferentes letras sobrescritas nas linhas, diferem (P<0,05) pelo Teste de Goodman As proporções nas colunas não diferem (P>0,05) pelo Teste de Goodman

Em trabalho realizado na espécie bovina, Franco et al. (2006) encontraram nas novilhas, uma tendência de melhores taxas de prenhez nas receptoras inovuladas com um embrião quando comparadas com aquelas que receberam dois embriões (20%). Esta diferença não foi significativa nas vacas que receberam um (57%) ou dois embriões (50%). O resultado apresentado nas fêmeas mais jovens deste experimento está de acordo com o obtido por nossa equipe no presente estudo, onde as fêmeas inovuladas com um embrião

tiveram taxas superiores (P<0,05) de prenhez (82,1%) que aquelas inovuladas com dois embriões (17,9%).

Tabela 7: Medidas de associação dos postos (Spearman) entre as variáveis estudadas em receptoras de embriões ovinos.

ASSOCIAÇÃO	Coeficiente de correlação
Idade vs ECC	- 0,303**
Idade vs Intervalo de retirada da esponja (h)	0,323*
Idade vs P4 Plasmática	- 0,353**
Peso vs ECC	0,614**
Peso vs IMC	0,819**
Peso vs P4 Plasmática	0,220*
ECC vs IMC	0,530**
ECC vs Intervalo de retirada da esponja e cio (h)	- 0,271**
ECC vs Duração do cio (h)	- 0,218*
ECC vs P4 Plasmática	0,356**
Intervalo de retirada da esponja (h) e cio vs Duração do cio (h)	- 0,273*
Intervalo de retirada da esponja e cio (h) vs P4 Plasmática	- 0,434**

^{*}p < 0,05; **p < 0,01

O teste de correlação de Spearman foi aplicado e estabeleceu-se a correlação de cada um dos parâmetros determinados durante a avaliação das receptoras de embrião entre si.

Houve correlação significativa negativa (r = - 0,303 / P<0,01) entre a associação dos parâmetros idade e escore de condição corporal (ECC) em que, nesse estudo, foi verificado que, quanto maior a idade das receptoras de embrião, menor o seu escore de condição corporal e assim como seu inverso, ou seja, quanto menor a idade maior o escore de condição corporal.

Para a associação idade e intervalo de retirada da esponja para a manifestação do cio (h) a correlação foi significativa e positiva (r = + 0,323 /P<0,05); logo quanto maior a idade da receptora maior o intervalo em horas, o

mesmo se aplicando ao inverso, ou seja, quanto menor era a idade da ovelha receptora menor era o tempo entre a retirada da esponja e os sinais do estro.

Na associação idade e concentração plasmática de progesterona a correlação foi negativa (r = -0,353 /P<0,01), nesse caso quanto maior a idade da ovelha receptora menor era a concentração plasmática de progesterona desta, assim como quanto menor a idade, maior a concentração sérica de progesterona encontrada.

Quando avaliadas as variáveis peso e escore de condição corporal (ECC) a correlação encontrada foi positiva (r = 0,614 /P < 0,01), quanto maior o peso da receptora, maior era seu escore de condição corporal, assim como quanto menor o peso da receptora, menor era o seu escore de condição corporal. A mesma interpretação pode ser extrapolada na análise da associação peso e índice de massa corpórea (IMC) e escore de condição corporal (ECC) e índice de massa corporal (IMC), onde a correlação encontrada também foi significativa e positiva (r = 0,819 / P<0,01) e (r = 0,530 / P<0,01), respectivamente.

A associação peso e concentração plasmática de progesterona apresentou coeficiente de correlação (r) de 0,220 e P < 0,05, nesse caso quanto maior o peso corpóreo da receptora, maior era a concentração plasmática de progesterona encontrada; o inverso também pode ser encontrado, ou seja, quanto menor o peso das receptoras, menor a concentração plasmática de progesterona. A mesma interpretação pode ser aplicada à associação escore de condição corporal e concentração sérica de progesterona, em que a correlação também foi significativa e positiva (r = 0,356 / P<0,01).

A correlação foi significativa, porém negativa (r = -0,273 /P< 0,05) quando foi associado o intervalo de retirada da esponja e a manifestação do estro (h) e a duração do cio da receptora, nesse caso quanto maior o intervalo da retirada da esponja e os sinais do estro, a duração do cio (h) era maior. E vice-versa, quanto menor o intervalo maior era a duração do cio. A mesma interpretação se enquadra na associação intervalo de retirada da esponja e o estro e concentração plasmática de progesterona.

CONCLUSÕES

- Receptoras com maiores índices de escore de condição corporal (escore 3) e maiores concentrações de progesterona plasmática (8,6 n/mL) apresentam melhores taxas de sobrevivência embrionárias;
- Receptoras inovuladas com um embrião apresentam resultados superiores em relação às inovuladas com dois embriões;
- Receptoras mais jovens tendem a oferecer melhores condições para a manutenção da gestação já que estas apresentam melhores índices de escore corporal, maiores concentrações plasmáticas de progesterona e melhor sincronia do estro com as doadoras;
- As variáveis: idade das receptoras, intervalo entre a retirada da esponja e o estro, duração do estro, número de corpos lúteos nos ovários, e qualidade do corpo lúteo não influenciam de maneira significativa a taxa de sobrevivência embrionária;
- O estadio de desenvolvimento embrionário influencia na sua taxa de sobrevivência, contudo embriões de graus 1 e 2 não diferem na taxa de sobrevivência embrionária;
- Embriões frescos apresentam taxas superiores de sobrevivência quando comparados a embriões congelados-descongelados;
- Estes resultados sugerem que mais trabalhos devem ser realizados para estudos destes fatores, visto que sobre as correlações entre os parâmetros de avaliação da receptora, pouco se encontra na literatura.

REFERÊNCIAS

ABABNEH, M.M., DEGEFA, T. Ultrasonic assessment of puerperal uterine involution in Balady goats. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 52, p. 244-248, 2005.

ABDULLAH, A-R., OLUTOGUN, O. Genetic evaluation of body weight and linear bodymeasurements of n'dama bull calves at birth in Nigeria. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Anais, Belo Horizonte, MG, Brasil, 2006.

ABECIA, J.A., LOZANO, J.M., FORCADA, F., ZARAZANGA, L. Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day 8 in pregnancy in Rasa Aragonesa ewes. **Animal Reproduction Science**. v. 48, p. 209–218, 1997.

ADAMS, N.R., RITAR, A.J. Measurement of estrogen receptors in the ovariectomized ewes is affected by body condition and secondary binding sites. **Biology of Reproduction**, v.35, p. 828-832, 1986.

AHMED, M.M.M., MAKAWI, S.E., JUBARA, A.S. Synchronization of oestrus in Nubian goats. **Small Ruminant Research**, v.30, p.113-120, 1998.

AINSWORTH, L., WOLYNETZ, M.S. Synchronization of estrus and reproductive performance of ewes treated with synthetic progestogens administered by subcutaneous ear implant or by intravaginal sponge pessary. **Journal of Animal Science**, v.54, n.6, p.1120-7, 1982.

ALABART, J.L., FOLCH, J., FERNANDEZ-ARIAS, A., RAMON, J.P., GARBAYO, A., COCERO, M.J. Screening of some variables influencing the results of embryo transfer in the ewes. I 5 day-old-embryos. **Theriogenology**, v. 44, p. 1011-1026, 1995.

ALABART, J.L., FOLCH, J., FERNANDEZ-ARIAS, A., RAMON, J.P., GARBAYO, A., COCERO, M.J. Screening of some variables influencing the results of embryo transfer in the ewe. Part II: two-day-old embryos. **Theriogenology**, v.59, p.1345-56, 2003.

ALI, A., DERAR, R., HUSSEIN, H. Seasonal variation of the ovarian follicular dynamics and luteal functions of sheep in the subtropics. **Theriogenology**, v. 66, p. 463-469, 2006.

AMBROSE, J.D., DROST, M., MONSON, R.L., RUTLEDGE, J.J., LEIBFRIED-RUTLEDGE, M.L., THATCHER, M-J., KASSA, T., BINELLI, M., HANSEN, P.J., CHENOWETH, P.J., THATCHER, W. W. Efficacy of Timed Embryo Transfer with

Fresh and Frozen In Vitro Produced Embryos to Increase Pregnancy Rates in Heat-Stressed Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, V. 82, p. 2369–2376, 1999.

ARMSTRONG, D.T., EVANS, G. Factors influencing sucesso of embryo transfer in sheep and goats. **Theriogenology**, v. 19, p. 31-42, 1983.

ARMSTRONG, D.T., PFITZNER, A.P., WARNES, G.M., SEAMARK, R.F. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora Goats. **Journals of Reproduction & Fertility.** V. 67, p. 403-410, 1983.

ASHWORTH, C.J., SALES, D.I., WILMUT, I. Evidence of na association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. **Journals of Reproduction & Fertility**, v.87, p. 23-32, 1989.

BARI, F., KHALID, M., HARESIGN, W., MURRAY A., MERRELL, B. Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program. **Theriogenology**, v.59, p. 1265-1275, 2003.

BARIL, G., REMY, B., LEBOEUF, B. Synchronization of estrus in goats: the relationship between eCG binding in plasma, time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. **Theriogenology**, v.45, p.1553-1559, 1996.

BARIL, G., TRALDI, A-L., COGNIÉ, Y., LEBOEUF, B., BECKERS, J.F., MERMILLOD, P. Successful direct transfer of vitrified sheep embryos. **Theriogenology**, v. 56, p. 299-305, 2001.

BARUSELLI, P.S., MARQUES, M.O., CARVALHO, N.A.T., VALENTIM, R., BERBER, R.C.A., CARVALHO FILHO, A.F., MADUREIRA, E.H.COSTA NETO, W.P. Aumento da taxa de prenhez em receptoras de embrião bovino pela utilização do protocolo "ovsynch" com inovulação em tempo fixo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 15.,2000, Rio Quente. **Resumos**... Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.216, 2000.

BATISTA, M. Incidence and treatment of hydrometra in the Canarian goat. **Veterinary Record**, v.149, p. 329-330, 2001.

BEARD, A.P., HUNTER, M.G., LAMMING, G.E. Quantitative control of oxytocininduced PGF_{2 α} release by progesterone and oestradiol in ewes. **Journals of Reproduction & Fertility**, v.100, p.143-50, 1994. BICUDO, S.D., SARTORI FILHO, R., CURI, P.R. Distribuição do índice de massa corpórea (IMC-QUETELET) de acordo com a época do ano e estado gestacional em vacas Nelores, In: Congresso Brasileiro Reprodução Animal, 11, 1995, Belo Horizonte: **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, p.373, 1995.

BICUDO, S.D. O diagnostico ultrassonográfico de gestação em ovinos. Acesso em 12 de Outubro de 2009. Online. Disponível na Internet: HTTP://www.fmvz.unesp.br/Informativos/ovinos/repman3.htm

BOSCOS, C.M., SAMARTZI, F.C., DELLI, S., ROGGE, A., STEFANAKIS, A., KRAMBOVITIS, E. Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. **Theriogenology**, v.58, p.1261-72, 2002.

BOUCINHAS, C.C., SIQUEIRA, E.R., MAESTÁ, A.S. Dinâmica do peso e da condição corporal e eficiência reprodutiva de ovelhas da raça Santa Inês e mestiças Santa Inês-Suffolk submetidas a dois sistemas de alimentação em intervalos entre partos de oito meses. **Ciência Rural**, v.36, p.904-909, 2006.

BREUEL, K.F., BAKER, R.D., BUTHER, R.L., TOWNSEND, E.C., INSKEEP, E.K., DAILEY, R.A. The effect of breed, age of donor and dosage of follicle-stimulating hormone on the superovulatory response of beef-cows. **Theriogenology**, v. 36, p. 241-255, 1991.

BROADBENT, P.J. Management of bovine embryo transfer recipients. **Embryo Transfer Newsletter**, v. 10, p. 18-24, 1992.

BURCELIN, R., THORENS, B., GLAUSER, M., GAILLARD, R.C., PRALONG, F.P. Gonadotropin-Releasing hormone secretion from hypothalamic neurons: stimulation by insulin and potentiation by leptin. **Endocrinology**, v. 144, p. 4484-4491, 2003.

CLINE, M.A., RALSTON, J.N., SEALS, R.C., LEWIS, G.S. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes. **Journal of Animal Science**, v.79, p. 589–594, 2001.

COLAS, G., THIMONIER, J., COUROT, M., OORTAVANT, R. Fertilité, prolificité et fecondité pendant La saison sexuelle dês brebis inséminées artificiale après traitement après traitement a l'acetate de fluorogestone. **Ann Zootech**, v. 22, p. 441-451, 1973.

COLEMAN, D. A., DAILEY, R. A., LEFFEL, R. E., BAKER, R. D. Estrous synchronization and establishment of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. **Journal of Dairy Science**. v.70, p. 858, 1987.

DANTAS, V. M., FASCINA, V.B., RASI, L., MONREAL, A. C. D. Relação entre a circunferência torácica e peso corporal de Bodes saanen em mato grosso do sul. Relationship between the thoracic circunference and body weight of saanen bucks in Mato Grosso do Sul. **Anais** CONBRAVET, 2008.

DIAS, F.E.F., LOPES JUNIOR, E.S., VILLAROEL, A.B.S., RONDINA, D., LIMA-VERDE, J.B., PAULA, N.R.O., FREITAS, V.J.F. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica eqüina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.53, p. 618-623, 2001.

DONALDSON L.E. Matching of embryo stages and grades with recipients oestrus synchrony in bovine embryo transfer. **Veterinary Record**, v. 117, p. 489-491, 1985.

DUGGAVATHI, R., BARTIEWSKI, P.M., BARRETT, D.M.W., RAWLINGS, N.C. Use of high-resolution transrectal ultrasonography to asses changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. **Theriogenology**, v.60, n.3, p. 495-510, 2003.

ROBERTS, E.M., HAFEZ, E.S.E. Synchronization of estrus in cyclic Merino ewes with vaginal sponges and Pregnant Mare Serum. **American Journal of Veterinary Research**. v.30,1969.

ELSDEN, P. **Bovine embryo transfer**. In: CURSO INTERNACIONAL DA STRACTA. Brasília, 1985, Manual...Brasília-DF. cap. 13, p. 1-42, 1985.

FONSECA, J.F., BRUSCHI, J.H., ZAMBRINI, F.N., DEMCZUK, E., VIANA, J.H.M., PALHÃO, M.P. Induction of synchronized estrus in dairy goats with different gonadotrophins. **Animal Reproduction**, v.2, n.1, p.50-53, 2005

FRANCO, M., BLOCK, J., JOUSAN, F.D., DE CASTRO, L.A., PAULA, E., BRAD, A.M., FRANCO, J.M., GRISEL, F., MONSON, R.L., RUTLEDGE, J.J., HANSEN, P.J. Effect of transfer of one or two in vitro-produced embryos and post-transfer administration of gonadotropin releasing hormone on pregnancy rates of heat-stressed dairy cattle. **Theriogenology**, v.66, p. 224-233, 2006.

FUCK, E.J., MORAES, G.V., MARTINS, E.N., FALCÃO, A.J.S., RODRIGUES, C.M., CARDOZO, R.M., BARROS, C.M. Uso da gonadotrofina coriônica equina em receptoras de embriões para avaliar o incremento da progesterona endógena no dia da inovulação e sua correlação com a taxa de prenhez. **Acta Scientiarum Maringá**, v. 24, n. 4, p. 1119-1126, 2002.

GABIÑA, D., FOLCH, J. Artificial insemination in sheep. Results of its use in a selection programme for Aragon sheep. **Información Técnica Económica Agraria**, v. 68, p. 15-25, 1987.

GARCIA-GARCIA, R.M., GONZALEZ-BULNES, A., DOMINGUEZ, V., VEIGA-LOPEZ, A., COCERO, M.J. Survival of frozen-thawed sheep embryos cryopreserved at cleavage stages. **Cryobiology**, v. 52, p. 108-113, 2006.

GEISERT, R.D., MORGAN, G.L., SHORT, E.C.. Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v.4, p.301-305,1992.

GOODMAN, L.A. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial populations. **Ann. Math. Stat.**, v.35, p.716-725, 1964.

GOODMAN, L.A. On simultaneous confidence intervals for multinominal proportions. **Techometrics**, v.9, p.247-254, 1965.

GONZALEZ, C.I.M., ANDRIOLI, A., CUNHA, M.G.G. Avanços na transferência de embriões em caprinos e ovinos de corte no Brasil. In: I Simpósio Internacional sobre o agronegócio da caprinocultura leiteira, **II Simpósio Internacional sobre caprinos e ovinos de corte**, João Pessoa. 2 Sincorte. João Pessoa : Emepa, 2003. p. 331-352, 2003.

GRIFFIN, P.G., GINTHER, O.J. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 953-972, 1992.

GUNN, R.G., DONEY, J.M., SMITH, W.F. The effect of level of pre-mating nutrition on ovulatory rate in scottish blackface ewes in different body conditions at mating. **Animal Production**, v.39, p.235-239, 1984.

HASLER, J.F., BOWEN, R.A., NELSON, L.D., SEIDEL Jr, G.E. Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers. **Journals of Reproduction & Fertility**, v. 58, p. 71-78, 1980.

HASLER, J.F., McCAULEY, A.D., LATROP, W., FOOTE, R.H., ELIZABETHTOWN, P.A. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large scale bovine embryo transfer program. **Theriogenology**, v. 27, v. 139-168, 1987.

HASLER, J.F. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. Theriogenology, Amsterdam, v.56, n.9, p.1401-1415, 2001.

AWEL, H., ESHETU, L., TADESSE, G., BIRHANU, A., KHAR, S.K. Estrus synchronization in sheep with synthetic progestagens. **Tropical Animal Health and Production**, v. 41, p. 1521-1524, 2009.

HAYDER, M., ALI, A. Factors affecting the postpartum uterine involution and luteal function of sheep in the subtropics. **Small Ruminant Research**, v. 79, p. 174-178, 2008.

HESSELINK, J.W. Incidence of hydrometra in dairy goats. **Veterinary Record**, v. 132, p. 110-132, 1993.

HESSELINK, J.W., TAVERNE, M.A.M., BEVERS, M.M., VAN OORD, H.A. Serum prolactin concentrations in pseudopregnant and normally reproducing goats. The **Veterinary Record**, v.137, p. 166-168, 1995.

IBGE, 2007. **Pesquisa da Pecuária Municipal**. Disponível em www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2007/default.shtm

IETS: Sociedade Internacional De Transferência De Embriões. Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. 3.ed. Illinois, 180p, 1998.

JABBAR, G., UMBERGER, S.H., LEWIS, G.S. Seasonally anovular ewes. Melengestrol acetate and norgestomet for the induction of synchronized estrus in seasonally anovular ewes. **Journal Animal Science**, v. 72, p. 3049-3054, 1994.

JAINUDEEN, M.R., HAFEZ, E.S.E. Sheep and goat. In: HAFEZ, E.S.E. (Ed.) **Reproduction in farm animals**. 6.ed. Philadelphia: Lea & Fabiger, p.330-342, 1993.

KLEEMANN, D.O., GROSSER, T.I., WALKER, S.K. Fertility in South Australian commercial Merino flocks: aspects of management. **Theriogenology**, v. 65, p. 1649-1665, 2006.

KRIDLI, R.T., AL-KHETIB, S.S. Reproductive responses in ewes treated with eCG or increasing doses of royal jelly. **Animal Reproduction Science**, v.92, p. 75–85, 2006.

KUSAKARI, N., OHARA, M., MORI, Y. Seasonal variation in the timing of estrous behavior, LH surge and ovulation following the treatment with progesterone and PMSG in Suffolk ewes. **Journal of Reproduction and Development**, v. 41, p. 249-254, 1995.

LAMMING, G.E., MANN, G.E. Progesterone concentration affects the development of the luteolytic mechanism in the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, Abstract, v.11, p.8-17, 1993.

LAU, T., GOW, G.B., FAIRCLOUGH, R.J. Differential effects of progesterone treatment on the oxytocin-induced prostaglandin response and the levels of endometrial oxytocin receptors in ovariectomized ewes. **Biology of Reproduction**, v.46, p.17-22, 1992.

LINDNER, G.M., WRIGHT Jr., W. BOVINE EMBRYO MORPHOLOGY AND EVALUATION. **Theriogenology**, v. 20., p. 407-416, 1983.

LINDSAY, D.R. Reproduction in the sheep and goat. In: CUPPS, P.T. (Ed.) **Reproduction in domestic animals**. 4.ed. San Diego: Academic Press, p.491-515, 1991.

LOONEY, C.R., ODEN, A.J., MASSEY, J.M., JOHNSON, C.A., GODKE, R.A. Pregnancy rates following hCG administration at the time of transfer in embryo recipient cattle. **Theriogenology**, v. 21, p. 246, 1984. (resumo).

LOPES JÚNIOR, E.S., CRUZ, J.F., TEIXEIRA, D.I.A., LIMA VERDE, J.B., PAULA, N.R.O., RONDINA, D., FREITAS, V.J.F. Pseudopregancy in Saanen goats (Capra hircus) raised on Northeast Brazil. **Veterinary Research Communications**,v.28, p. 119-125, 2004.

MAFFILI, V.V., TORRES, C.A.A., BRUSCHI, J.H., FONSECA, J.F., VIANA, J.H.M. Indução de estro em cabras da raça Toggenburg com dois diferentes dispositivos intravaginais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.3, p.367-372, 2006.

MANN, G.E., LAMMING, G.E., ROBINSON, R.S., WATHES, D.C. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility,** v.54, p.317-28, 1999.

MARKETTE, K.L., SEIDEL Jr., G.E., ELSDEN, R.P. Estimation of embryonic losses in bovine embryo transfer recipients from progesterone profiles and returns to estrus. **Theriogenology,** v. 23, p. 45-62, 1985.

MARQUES, M.O., MADUREIRA E.H., BÓ, G.A., BARUSELLI, P.S. Ovarian ultrasonography and plasma progesterone concentrations in Bos taurus x Bos indicus heifers administered different treatments on day 7 of the estrous cycle. **Theriogenology** v. 57, p.548, 2002.

MCNEILLY, A.S., JONASSEN, J.A., RHIND, S.M. Reduced ovarian follicular development as a consequence of low body condition in ewes. **Acta Endocrinol (Copenh).** v.115, p.75-83, 1987 (resumo).

MINTON, J.E.; COPPINGER, T.R.; SPAETH, C.W. Poor reproductive response of anestrous Suffolk ewes to ram exposure is not due to failure to secrete luteinizing hormone acutely. **Journal of Animal Science**, v.69, p.311-332, 1990.

NANCARROW, C.D. Embryonic mortality in the ewe and doe. In: ZAVY, M.T., GEISERT, R.D. (Ed). *Embryonic mortality in domestic species*. London: CRL Press, 1994. p.79-97.

NIEMANN, H. Cryopreservation of ova and embryos from livestock: current status and research needs. **Theriogenology**, v.35, p. 109–124, 1991.

NIEMANN, H., SACHER, B., ELSAESSER, F. Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer of frozen/thawes bovine embryos. **Theriogenology**, v.23, p.631-639, 1985.

NORTHY, D.L., BARNES, F.L., EYESTONE, W.H., FIRST, N.L. Relationship of serum progesterone, luteinizing hormone and the incidence of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.23, p.214, 1985 (resumo).

OJEDAPO, L.O., ADEDEJI, T.A., OLAYEM,T.B., ADEDEJI, O.S., ABDULLAH, Z.A., OJEBIYI, R.. Influence of Age and Sex on Body Weight and Some BodyLinear Measurements of Extensively Reared Wad Goatsin Derived Savannah Zone of Nigeria. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 6, p. 114-117, 2007.

OKANO, A., TOMIZUKA, T. Ultrasonic Observation of postpartum uterine involution in the cow. **Theriogenology**, v.27, p.369-376, 1987.

OSGERBY, J.C., WATHES, D.C., HOWARD, D., GADD, T.S. The effect of maternal undernutrition on ovine fetal growth. **Journal of Endocrinology**, v.173, p.131-141, 2002.

PIETERSE, M.C., TAVERNE, M.A.M. Hydrometra in goats: Diagnosis with real-time ultrasound and treatment with prostaglandins or oxytocin. **Theriogenology**, v.26, p. 813-821, 1986.

PINEDA, M.H. Reproductive patterns of sheep and goat. In: McDONALD, L.E. (Ed.) **Veterinary endocrinology and reproduction**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Fabiger, p.428-447, 1989.

POPE, W.F., LAWYER, M.S., NARA, B.S., FIRST, N.L. Effect of asynchronous superinduction on embryo survival and range of blastocyst development in swine. **Biology of Reproduction** v.35, p.133–137, 1986.

REMSEN, L.G., ROUSELL, J.D., KARIHALOO, A.K. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipientes heifers at day of transfer. **Theriogenology**, v. 18, p. 365-372, 1982.

RIBEIRO, E.F., BICUDO, S.D., RODELLO, L. Proposta de avaliação da condição coeporal pela utilização do índice de massa corpórea em ovinos. 11ª Mostra Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp Botucatu. Anais em mídia eletrônica, 2007.

ŘÍHA J., FRELICH J., GOLDA J., VANĚK D. Alternative methods utilizing ET for the formation of beef cattle herds. Arch. Tierz., Dummerstorf, v. 41, p. 345–357, 1998.

ROMANO, J.E. Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. **Small Ruminant Research**, v. 55, p. 15-19, 2004.

ROMANO, J.E., CHRISTIANS, C.J. Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in ewes. **Small Ruminant Research**, v. 77, p. 51–57, 2008.

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

RUBIANES, E., DE CASTRO, T., KMAID, S. Estrous response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. **Theriogenology**, v.49, p.345, 1998.

SANTANA, A.F., COSTA, G.B., FONSECA, L.S. Correlações entre peso e medidas corporais em ovinos jovens da raça Santa Inês. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**. v.1, n.3, p.74-77, 2001.

SANTOS, M.H.B., GONZALEZ, C.I.M., BEZERRA, F.Q.G., NEVES, J.P., REICHENBACH, H.D., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. Sexing of Dorper sheep fetuses

derived from natural mating and embryo transfer by ultrasonography. Reproduction, **Fertility and Development.** v. 19, n. 23, p. 366-369, 2007.

SANTOS, M.H.B., AGUIAR FILHO, C.R., FREITAS NETO, L.M., SILVA, S.R., NEVES, J.P., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.L. Uso do ultra-som para sexar fetos da raça Moxotó identificando a posição final do tubérculo genital. **Arch. Zootec**. v.57, n. 220, p. 505-511, 2008.

SASA, A., TESTON, D.C., RODRIGUES, P.A., COELHO, L.A., SCHALCH, E. Concentrações Plasmáticas de Progesterona em Borregas Lanadas e Deslanadas no Período de Abril a Novembro, no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.31, n.3, p.1150-1156, 2002.

SHEA, B.F. Evaluating the bovine embryo. Theriogenology, v. 15, p. 31-42, 1981.

SOUZA, C.J.H., MORAES, J.C.F., CHAGAS, L.M. Effects of the boroola genes on time of ovulation and ovulatory dynamics. **Animal Reproduction Science**, v.37, p.7-13, 1994.

SPELL, A.R., BEAL, W.E., CORAH, L.R. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. **Theriogenology**, v.56, p.287-297, 2001.

SPITZER, J.C. Influences of nutrition on Reproduction in Beef Cattle. In: MORROW, D.A. (Ed.) **Current therapy in theriogenology**. Philadelphia: Saunders Co, p. 320-341, 1986.

SREENAN, J.M., DISKIN, M.G. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. **Theriogenology**, v. 27, p. 99-113, 1987.

STELLFLUG, J.L., RODRIGUEZ, F., LAVOIE, V.A., GLIMP, H.A. Influence of simulated photoperiod alteration and induced estrus on reproductive performance of spring-born Columbia and Targhee ewe lambs. **Journal of Animal Science**, v.72, p.29-33, 1994.

THOMPSON, J.G., BELL, A.C.S., McMILLAN, W.H., PETERSON, A.J., TERVIT, H.R. Donor and recipient ewe factors affecting in vitro development and post-transfer survival of cultured sheep embryos. **Animal Reproduction Science**, v. 40, p. 269-279, 1995.

THOMPSON, J.G., MEYER, H. Body Condition Score of Sheep. Disponível em: http://oregonstate.edu/dept/animal-sciences/bcs.htm Acesso em 12 de Outubro de 2009.

TRALDI, A.S. Biotécnicas aplicadas em reprodução animal de pequenos ruminantes, **III FEINCO**, 2006.

VALLET, J.L., LAMMING, G.E. Ovine conceptus secretory proteins and bovine recombinant interferon decrease endometrial oxytocin receptor concentrations in cyclic and progesterone treated ovariectomized ewes. **J. Endocrinology**, v.131, p.475-482, 1991.

VASCONCELOS, J.L.M. Controle do estro e da ovulação visando a inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de leite. In: Marques, M.O. (Ed), **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**. São Paulo: Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, p. 115-157, 2000.

VASCONCELOS, J.L.M., SARTORI, R., OLIVEIRA, H.N., GUENTHER, J.G., WILTBANK, M. Reduction is size of ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 56, p. 307-314, 2001.

VIEIRA, R.C., FRANCO, R.V.R., DINIZ, E.G., JACOMINI, J.O. Relação entre a morfologia do corpo lúteo e índices de prenhez em receptoras de embriões bovinos. **Biosci. J.**, v. 18, n.2, p. 99-102, 2002.

WEST, K.S., MEYER, H.H., NAWAZ, M. Effects of differential ewe condition at mating and early postmating nutrition on embryo survival. **Journal of Animal Science,** v. 69, p. 3931-3938, 1991.

YAMI, A., GIPSON, T.A., MERKEL, R.C. Estimation of weight and age of sheep and goats. Disponível em: http://www.esgpip.org/PDF/Technical%20bulletin%20No.23.pdf Acesso em 12 de Outubro de 2009.

YANG, O.S.J., LEE, M.S., SEONG, H.H., JUNG, J.K., KANG, H.J. A study of twin production by embryo transfer following artificial insemination in Korean native cows. **Journal of Agricultural Science**, v. 35, p. 507-512, 1993.

YEAGER, A.E., CONCANNON, P.W. Serial ultrasonographic appearance of postpartum uterine involution in Beagle dogs. **Theriogenology**. V.34, p. 523-535, 1990.

ZAAR, J.H. Biostatical analysis, 4 ed. Prentice Hall, New Jersey, 663 p. 1999.

ZANGH, S., BLACHE, D., BLACKBERRY, M.A., MARTIN, G.M. Body reserves affect the reproductive endocrine responses to an acute change in nutrition in mature male sheep. **Animal Reproduction Science**, v. 88, p. 257–269, 2005.

ZARCO, L., STABENFELDT, G.H., QUIRKE, J.F. Release of prostaglandin F-2α and the timing of events associated with luteolysis in ewes with oestrous cycles of different lengths. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.83, p.517-526, 1988.

TRABALHO CIENTÍFICO

PARÂMETROS QUALI-QUANTITATIVOS NA SELEÇÃO DE RECEPTORAS EM PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES OVINOS¹

Thiago Matos de Oliveira², Leandro Rodello², Sony Dimas Bicudo², Hení Falcão da Costa⁴, Rodrigo Freitas Bittencourt², Carlos Roberto Padovani³, Eunice Oba^{2*}

⁴Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Distrito de Rubião Jr, s/n, Caixa Postal 510, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil

³Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Distrito de Rubião Jr, s/n, Caixa Postal 510, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil

²Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Distrito de Rubião Jr, s/n, Caixa Postal 524, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. *Corresponding author: euniceoba@fmvz.unesp.br

1.0 Resumo

A transferência de embriões (TE) é uma das biotécnicas utilizadas para aumentar o rebanho ovino geneticamente superior. Entretanto, o sucesso da TE requer máxima taxa de sobrevivência dos embriões transferidos em ovelhas receptoras. Diante de tal obstáculo, o presente estudo foi desenvolvido para avaliar a correlação de fatores inerentes tanto à receptora quanto ao embrião e a taxa de sobrevivência embrionária. Os resultados obtidos demonstraram que não houve variação significativa entre a idade, intervalo de retirada do pessário impregnado com MAP e o estro, número de corpos lúteos nos ovários esquerdo e direito, assim como a qualidade destes, peso corporal, índice de massa corporal e grau de desenvolvimento do embrião com a taxa de sobrevivência embrionária (p>0,05). A taxa de sobrevivência de embriões frescos diferiu significativamente dos congelados, assim como o estágio de desenvolvimento e o número de embriões inovulados (p<0,05). O escore de condição corporal e a concentração plasmática de progesterona apresentaram variação significativa quanto a sobrevivência embrionária (p<0,05). Os fatores inerentes à receptora correlacionados entre si apresentaram correlação significativa positiva ou negativa entre si

46

(p<0,01)/p<0,05). Tais resultados confirmam que tanto os fatores inerentes aos

embriões quanto às receptoras desempenham um papel fundamental para que se atinja

sucesso nos programas de transferência de embriões.

Palavras-chave: embrião, transferência, receptoras, ovinos

Abstract

The embryo transfer (ET) is one of the biotechniques used on accelerated

dissemination of superior genetic ewe. However, the ET success requires the major

survival rate of the embryos transfered to the recipient sheep. In face of these obstacle,

this study was developed to evaluate the inherent factors correlation of the recipient and

the ewe and the embryo survival rate. The results obtained show that there were no

significant variation between age, withdrawal range of the sponge impregnated with

MAP/estrus, number of corpus luteum in the right and left ovary such as its quality,

weight, body mass index, development degree of the unovulated embryo with the

embryo survival rate (P<0.05). The fresh embryo survival rate differed meaningly from

the frozen one, as well as the development and the number of unovulated embryos. The

body condition score and the plasmatic progesterone concentration showed significative

variation as the embryonic survival (P<0.05). The recipient inherent factors correlated

with themselves showed significative correlation. Such results confirm that both the

embryo and the recipient inherents factors play a fundamental role to achieve success in

the embryo transfer program.

Key words: embryo transfer, ewe, recipients.

2.0 Introdução

A pecuária brasileira tem tido uma demanda crescente de animais de elevado

mérito genético, o que tem impulsionado o uso de biotécnicas avançadas, notadamente

aquelas associadas à reprodução animal, tal como a superovulação (SOV) e

transferência de embriões (TE). A transferência de embriões possibilita uma

disseminação acelerada de animais geneticamente superiores, além da redução no

intervalo entre gerações. Entretanto, o sucesso da TE requer máxima taxa de

sobrevivência dos embriões de alto mérito transferidos para ovelhas receptoras (Bari et

al., 2003). A qualidade e o estadio de desenvolvimento do embrião transferido, o escore

de condição corporal, a concentração de progesterona plasmática, a idade e o número de

corpos lúteos da receptora são alguns dos fatores específicos inerentes à receptora e ao embrião relatados por interferirem significativamente no sucesso da TE em bovinos caprinos e ovinos (Armstrong e Evans, 1983; Loney et al., 1984; Sreenan e Diskin, 1987; Hasler et al., 1987; Alabart et al., 1995).

O efeito do estadio de desenvolvimento do embrião em sua sobrevivência após a transferência tem sido investigado nos ruminantes. Estudos apontam uma maior taxa de sobrevivência dos embriões transferidos no estadio de blastocisto quando comparados com os de mórula (Armstrong e Evans, 1983; Looney et al., 1984; Donaldson, 1985; Hasler et al., 1987). A qualidade do embrião influenciou na taxa de prenhez de vacas (Breuel et al., 1991; Donaldson, 1985), no entanto, Sreenan e Diskin (1987) não encontraram associação significativa em embriões transferidos nos graus 1, 2, 3 ou 4 e a taxa de sobrevivência embrionária. Resultados similares foram encontrados em ovelhas, onde não houve diferença na taxa de sobrevivência entre embriões classificados como de Graus 1 e 2 no momento da transferência (Alabart et al., 1995).

A maior taxa de sobrevivência embrionária esteve diretamente relacionada à quantidade e qualidade dos corpos lúteos produzidos (Armstrong et al., 1983). A concentração de progesterona plasmática nas receptoras foi relacionada ao número de ovulações ou corpos lúteos em ovelhas (Ashworth et al., 1989). A sobrevivência embrionária tem sido relatada por aumentar com o aumento na concentração de progesterona plasmática em vacas (Hasler et al., 1980; Remsen et al., 1982) e o número de corpos lúteos em cabras (Armstrong et al., 1983) e ovelhas Bari et al., 2003).

O escore de condição corporal das receptoras pode influenciar na taxa de ovulação (Boucinhas et al., 2006); isto ocorre por meio da alteração na concentração plasmática de FSH, que consequentemente afeta o número de folículos potencialmente ovulatórios crescendo além dos 4mm de diâmetro (McNeilly et al., 1987). Além disso, West et al. (1991) e Abecia et al. (1997) também associaram o sucesso da sobrevivência embrionária com a manipulação da condição corporal no período de cobertura desses animais.

Diante dos obstáculos enfrentados para obtenção de sucesso em um programa de TE em ovinos, o presente estudo foi desenvolvido para avaliar a correlação da idade, do peso, do escore de condição corporal, do índice de massa corpórea, do intervalo entre o final do tratamento hormonal e o início do estro e a duração deste estro, a taxa de

48

ovulação e qualidade dos corpos lúteos e a concentração plasmática de progesterona da receptora, além de características do embrião tais como qualidade, estádio de desenvolvimento, número de embriões inovulados e tipo, congelado ou fresco, e a taxa de sobrevivência embrionária.

3.0 Material e métodos

3.1 Seleção e avaliação dos animais

O estudo envolveu 13 doadoras de embrião das raças Dorper e Santa Inês e 90 ovelhas receptoras de embrião, Santa Inês, meio sangue Santa Inês e um pequeno número de fêmeas Lacaune, distribuídas em quatro propriedades rurais do estado de São Paulo, Brasil. Na seleção prévia, todos os animais foram submetidos ao exame ultrassonográfico transretal (transdutor linear 7,5MHz) para descarte de possível gestação e problemas reprodutivos, assim como passaram por avaliação da idade pela dentição do animal (Adaptado de Yami et al., 2009), peso corporal, escore de condição corporal (Thompson e Meyer, 2009) e avaliação morfométrica do índice de massa corpórea (IMC), utilizando a fórmula:

$$IMC = Peso x [(AC x 100^{-1}) x (CEI x 100^{-1})]^{-1}$$

Onde tem-se: IMC = índice de massa corpórea

Peso = peso corporal (kg)

AC = altura da cernelha (cm)

CEI = comprimento do esterno à tuberosidade isquiática

(Adaptado de Bicudo et al., 1995).

3.2 Sincronização do estro

A indução do estro e superovulação nas doadoras foi realizada de acordo com o protocolo ilustrado na figura 1.

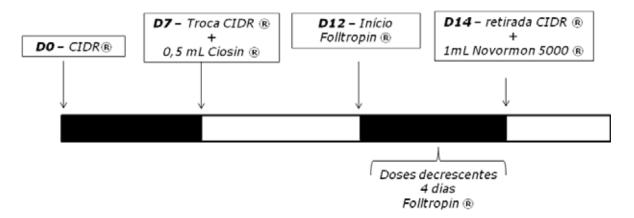


Figura 1. Protocolo de Sincronização do estro e Superovulação das doadoras

O protocolo utilizado na sincronização do estro nas receptoras está descrito na figura 2.



A indução do estro nas receptoras teve início no mesmo dia das doadoras, com inserção de esponja impregnada com medroxiprogesterona e aplicação de 400 UI de ECG, 14 dias após, na retirada da esponja.

3.3 Inseminação artificial e colheita dos embriões

A inseminação artificial (IA) nas doadoras foi realizada por laparoscopia com deposição intrauterina do sêmen no dia 16 após o início do protocolo, sendo realizados dois procedimentos no mesmo dia, um pela manhã e outro no período da tarde. De

acordo com a disponibilidade da propriedade, Algumas foram inseminadas com sêmen congelado e outras com sêmen fresco, todos avaliados quanto à sua qualidade antes da IA. Os embriões foram colhidos cirurgicamente no dia 6 após a IA.

3.4 Inovulação das receptoras

Após avaliação, os embriões foram inovulados pela técnica da semi-laparoscopia em receptoras que haviam apresentado estro. O corno uterino escolhido foi o ipsilateral ao ovário com a maior quantidade e/ou melhor qualidade dos corpos lúteos (CLs). O parâmetro decisivo para inovulação ou não era o aspecto dos corpos lúteos visualizados por laparoscopia previamente à inovulação. Foi estipulada uma classificação composta de três escores para esta variável, sendo escore 3 para um corpo lúteo com ótimo aspecto macroscópico de coloração (avermelhada, indicando boa vascularização) e tamanho, 2 para um corpo lúteo de bom aspecto e escore 1 para aqueles que apresentavam coloração amarelada, pálida e tamanho reduzido, sinalizando uma possível regressão da estrutura, sendo que, nesses casos, a inovulação não era realizada.

3.5 Quantificação da progesterona plasmática (P4)

No dia da inovulação das receptoras foi realizada uma colheita de sangue por meio da venopunção jugular, em tubos heparinizados, para posterior dosagem da concentração plasmática de progesterona, por radioimunoensaio em fase sólida utilizando-se *kits* comerciais (DPC® – Diagnostic Products Corporations).

3.6 Análise estatística

Foram utilizados os testes de Mann Withiney para variáveis que não apresentaram características de normalidade, t de Student para amostras independentes que demonstraram aderência à distribuição normal de probabilidades (Zarr, 1999). Para as variáveis nominais utilizou-se o teste de Goodman (Goodman, 1965) e, para as quantitativas, a correlação de Spearman (Zarr, 1999), com nível de significância de 5%.

4.0 Resultados e Discussão

A análise dos resultados obtidos revela que não houve variação significativa (P>0,05) entre a taxa de sobrevivência embrionária e a idade das receptoras com idade menor que um ano (dente de leite) e maior que três anos (quatro dentes), que mantiveram a gestação até o momento do diagnóstico de gestação realizado aos 60 dias

pós-inovulação (prenhas) (mediana = 4,00) e aquelas que não mantiveram a gestação (não prenhas) com a mesma variação de idade (mediana = 5,00). A mesma conclusão foi obtida para as demais variáveis, em que se obteve, nas medianas encontradas, para o intervalo entre a retirada da esponja com MAP e o cio (42,00 h - vazias e 36,00 h prenhas), duração do cio (36,00 h - vazias e 36,00 h - prenhas), número de corpos lúteos no ovário esquerdo (1,00- não prenhas e 1,00 - prenhas), números de corpos lúteos no ovário direito (1,00 - vazias e 1,00 - prenhes), qualidade do corpo lúteo esquerdo (2,00 - vazias e 3,00 - prenhes) e qualidade do corpo lúteo direito (3,00 vazia e 2,00 – prenhe), ou seja, para todas as variáveis submetidas ao Teste de Mann-Whitney P>0,05. Os resultados encontrados discordam com Armstrong et al. (1983) que observaram maiores taxas de sobrevivência embrionária em cabras receptoras com dois, três ou mais corpos lúteos àquelas com apenas um corpo lúteo. Tal resultado está de acordo com o que foi encontrado por Bari et al. (2003) em que a concentração de progesterona sustentada por um corpo lúteo foi suficiente para o crescimento, desenvolvimento e a implantação embrionária. Bari et al. (2003) encontraram diferenças significativas na taxa de sobrevivência embrionária em ovelhas de diferentes idades, sendo estas de 77,1%, 69,5% e 78,5% em ovelhas de 1, 4 e 6 anos, respectivamente. Para Alabart et al. (2003), o fato de receptoras mais jovens (2-5 anos) terem fertilidade mais alta, poderia ser explicado pelo fato de que ovelhas jovens provavelmente sofreram menos problemas de saúde. Similarmente, o uso de vacas jovens como receptoras tem sido aconselhados (Broadbent, 1992). Um declínio da fertilidade com o aumento da idade tem sido relatado em ovelhas (Colas et al., 1973; Gabiña e Folch, 1987), assim como em vacas receptoras (Yang et al., 1993). No entanto, os resultados encontrados no presente estudo discordam com tais autores, pois a variação da idade das receptoras não apresentou diferença significativa nas taxas de prenhez (p>0,05).

A Tabela 1 demonstra que, dos 59 embriões transferidos no estadio de mórula somente 15 sobreviveram, avaliando-se pelo intervalo de confiança (95%) estabelecido, a probabilidade mínima de sobrevivência de embriões transferidos nesse estadio de desenvolvimento encontrada é de 14,3% e a probabilidade máxima de 36,53%.

Quanto aos 22 embriões transferidos no estágio de blastocisto, dez sobreviveram e nesse caso a porcentagem mínima de sobrevivência sobe para 24,65% e a máxima para 66,27% de probabilidade.

Já dos seis embriões transferidos no estadio de blastocisto expandido, três sobreviveram, a porcentagem mínima de sobrevivência embrionária passa a ser de 10% enquanto a probabilidade (%) máxima de sobrevivência dos embriões transferidos nesse estadio é de 90%, diferindo significativamente dos demais estadios de desenvolvimento embrionário.

Quanto à qualidade do embrião, não houve diferença significativa entre os embriões transferidos no grau 1 ou 2.

Tabela 1: Porcentagens e limites de confiança da taxa de sobrevivência embrionária pós-inovulação de embriões ovinos em diferentes estadios de desenvolvimento inovulados em receptoras de embriões.

Estágio de	Embriões	Embriões que	IC%
desenvolvimento embrionário	transferidos (n)	sobreviveram (n)	(sobrevivência)
•			
Mórula	59	15 (25,42%)	(14,31%; 36,53%)
Blastocisto Inicial	3	0 (0,00%)	(0;0%)
Blastocisto	22	10 (45,46%)	(24,65%; 66,27%)
Blastocisto expandido	6	3 (50,00%)	(10,00%; 90,00%)
Total	90	28	

IC: intervalo de 95% de confiança para a proporção (porcentagem) de embriões que sobrevivem segundo o estágio de desenvolvimento.

Os resultados obtidos confirmam os encontrados por alguns autores onde, a taxa de sobrevivência embrionária também foi maior e mais significativa nos embriões transferidos no estadio de blastocisto que mórula (Armstrong e Evans, 1983; Donaldson, 1985; Hasler et al., 1987). Por outro lado, discordam com estudos obtidos em bovinos e ovinos em que não houve variação significativa nos estadios de mórula ou blastocisto (Pope et al., 1986; Coleman et al., 1987; Breuel et al., 1991; Bari et al., 2003). Bari et al. (2003) não encontraram variação significativa quanto à qualidade do embrião (graus 1, 2, 3 ou 4), enquanto em bovinos houve melhor taxa de sobrevivência

em embriões transferidos no grau 1 que no grau 4 (Donaldson, 1985; Breuel et al., 1991).

A Tabela 2 apresenta as variáveis Peso (kg), IMC (índice de massa corpórea), ECC (escore de condição corporal) e concentração plasmática de P4 e suas correlações com as taxas de sobrevivência embrionária. O ECC médio, 3,0±0,6, das ovelhas que mantiveram a gestação foi significativamente maior quando comparado à média (2,7±0,7) das ovelhas que não estavam prenhas (P<0,05). O mesmo foi observado para a concentração plasmática de P4 avaliada no dia da inovulação, em que a média foi significativamente maior nas ovelhas prenhas (8,6±5,0) quando comparada à média (7,8±4,6) daquelas ovelhas receptoras não prenhas (P<0,05).

Tabela 2: Média e desvio padrão das variáveis segundo diagnóstico de gestação (prenhas e não prenhas) realizado aos 30 e 60 dias em receptoras de embriões ovinos.

VARIÁVEL	Diagnóstico de gestação		
VARIAVEL	Não Prenhe	Prenhe (n=28)	
Peso (kg)	$48,8\pm6,6$	51,4±8,0	
ECC*	$2,7\pm0,7$	$3,04\pm0,6$	
IMC	98,0±10,8	102,5±11,8	
Progesterona plasmática P4(ng/mL)*	7,8±4,6	8,6±5,0	

^{*} P<0,05 Teste t de Student

O ECC é um fator que pode influenciar na taxa de prenhez no momento da inovulação em receptoras (Fuck et al., 2002). Elsden (1985) e Spitzer (1986), observaram que as receptoras bovinas com condição corporal entre 5 e 7 apresentavam maior índice de manifestação de cio e também melhor resposta aos programas de sincronização, quando comparadas com animais entre 2 e 4 pontos de escore de condição corporal. E consequentemente, as de melhores escores apresentavam um aumento no índice de prenhez. Resultados semelhantes foram encontrados por Fuck et al. (2002).

A concentração de progesterona próxima ao dia da ovulação contribui positivamente para melhora nos índices de prenhez das ovelhas (Ashworth et al., 1989). A mesma condição já foi demonstrada por diversos autores em estudos com bovinos (Marques et al., 2002; Mann et al., 1999; Hasler et al., 1980). Tais resultados confirmam os encontrados com o presente estudo.

A Tabela 3 apresenta os parâmetros determinados durante a avaliação das receptoras de embrião que apresentaram correlações significativas positivas e negativas pelo teste de correlação de Spearman.

Tabela 3: Medidas de associação dos postos (Spearman) entre as variáveis analisadas

em receptoras de embriões ovinos.

ASSOCIAÇÃO	Coeficiente de correlação
Idade vs ECC	- 0,303**
Idade vs Intervalo de retirada da esponja (h)	0,323*
Idade vs P4 Plasmática	- 0,353**
Peso vs ECC	0,614**
Peso vs IMC	0,819**
Peso vs P4 Plasmática	0,220*
ECC vs IMC	0,530**
ECC vs Intervalo de retirada da esponja e cio (h)	- 0,271**
ECC vs Duração do cio (h)	- 0,218*
ECC vs P4 Plasmática	0,356**
Intervalo de retirada da esponja (h) e cio vs Duração do cio (h)	- 0,273*
Intervalo de retirada da esponja e cio (h) vs P4 Plasmática	- 0,434**

p < 0.05; *p < 0.01

Houve correlação significativa negativa (r = -0,303 / p<0,01) entre a associação dos parâmetros idade e escore de condição corporal (ECC), em que nesse estudo encontrou-se que quanto maior a idade das receptoras de embrião menor o seu escore de condição corporal e assim como seu inverso, ou seja, quanto menor a idade, maior o escore de condição corporal.

Para a associação idade e intervalo de retirada da esponja e aparecimento do estro (h) a correlação foi significativa e positiva (r = +0.323 / p < 0.05), logo, quanto maior a idade da receptora maior o intervalo desde a retirada da esponja até a manifestação do estro em horas, o mesmo aplicando-se ao inverso, ou seja, quanto menor era a idade da ovelha receptora menor o tempo entre a retirada da esponja e o aparecimento do estro.

Na associação idade e concentração plasmática de progesterona a correlação foi negativa (r = -0.353 / p < 0.01), nesse caso quanto maior a idade da ovelha receptora menor era a concentração plasmática de progesterona desta, assim como quanto menor a idade, maior a concentração plasmática de progesterona encontrada.

Quando avaliadas as variáveis peso e escore de condição corporal (ECC) a correlação encontrada foi positiva (r = 0,614 /p < 0,01), quanto maior o peso da receptora, maior era seu escore de condição corporal, assim como quanto menor o peso da receptora, menor era o seu escore de condição corporal. A mesma interpretação pode ser extrapolada na análise da associação peso e índice de massa corpórea (IMC) e escore de condição corporal (ECC) e índice de massa corporal (IMC), onde a correlação encontrada também foi significativa e positiva (r = 0,819 / p<0,01) e (r = 0,530 / p<0,01), respectivamente.

A associação peso e concentração plasmática de progesterona apresentou coeficiente de correlação (r) de 0,220 e p < 0,05; nesse caso quanto maior o peso corpóreo da receptora, maior era a concentração plasmática de progesterona encontrada e o inverso também pode ser encontrado, ou seja, quanto menor o peso das receptoras, menor a concentração de progesterona.

A mesma interpretação pode ser aplicada à associação escore de condição corporal e concentração plasmática de progesterona, em que a correlação também foi significativa e positiva (r = 0.356 / p < 0.01).

A correlação foi significativa, porém negativa (r = -0,273 /p< 0,05) quando associado o intervalo de retirada da esponja e a manifestação do estro (h) e a duração do estro da receptora, nesse caso quanto maior o intervalo entre a retirada da esponja impregnada e o aparecimento dos sinais do estro, a duração do estro (h) era maior, e vice-versa, quanto menor o intervalo de retirada da esponja maior era a duração do estro. A mesma interpretação se enquadra na associação intervalo de retirada da esponja e concentração plasmática de progesterona.

5.0 Conclusão

- Receptoras com maiores índices de escore de condição corporal (escore 3) e maiores concentrações de progesterona plasmática (8,6 n/mL) apresentam melhores taxas de sobrevivência embrionárias:

- Receptoras inovuladas com um embrião apresentam resultados superiores em relação às inovuladas com dois embriões;
- Receptoras mais jovens tendem a oferecer melhores condições para a manutenção da gestação já que estas apresentam melhores índices de escore corporal, maiores concentrações plasmáticas de progesterona e melhor sincronia do estro com as doadoras;
- As variáveis: idade das receptoras, intervalo entre a retirada da esponja e o estro, duração do estro, número de corpos lúteos nos ovários, e qualidade do corpo lúteo não influenciam de maneira significativa a taxa de sobrevivência embrionária;
- O estadio de desenvolvimento embrionário influencia na sua taxa de sobrevivência, contudo embriões de graus 1 e 2 não diferem na taxa de sobrevivência embrionária:
- Embriões frescos apresentam taxas superiores de sobrevivência quando comparados a embriões congelados-descongelados;
- Estes resultados sugerem que mais trabalhos devem ser realizados para estudos destes fatores, visto que sobre algumas correlações entre os parâmetros de avaliação das receptoras, pouco se encontra na literatura.

6.0 Referências Bibliográficas

ABECIA, JA; LOZANO, JM; FORCADA, F; ZARAZANGA, L. Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day 8 in pregnancy in Rasa Aragonesa ewes. **Animal Reproduction Science**. v. 48, p. 209–218, 1997.

ALABART, J.L., FOLCH, J., FERNANDEZ-ARIAS, A., RAMON, J.P., GARBAYO, A., COCERO, M.J. Screening of some variables influencing the results of embryo transfer in the ewes. I 5 day-old-embryos. **Theriogenology**, v. 44, p. 1011-1026, 1995.

ALABART, J.L., FOLCH, J., FERNANDEZ-ARIAS, A., RAMON, J.P., GARBAYO, A., COCERO, M.J. Screening of some variables influencing the results of embryo transfer in the ewe. Part II: two-day-old embryos. **Theriogenology**, v.59, p.1345-56, 2003.

ALI, A., DERAR, R., HUSSEIN, H. Seasonal variation of the ovarian follicular dynamics and luteal functions of sheep in the subtropics. **Theriogenology**, v. 66, p. 463-469, 2006.

AMBROSE, J. D., DROST, M., MONSON, R.L., RUTLEDGE, J.J., LEIBFRIED-RUTLEDGE, M.L., THATCHER, M-J., KASSA, T., BINELLI, M., HANSEN, P.J., CHENOWETH, P.J., THATCHER, W. W. Efficacy of Timed Embryo Transfer with Fresh and Frozen In Vitro Produced Embryos to Increase Pregnancy Rates in Heat-Stressed Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, V. 82, p. 2369–2376, 1999.

ARMSTRONG, D.T., EVANS, G. Factors influencing sucesso of embryo transfer in sheep and goats. **Theriogenology**, v. 19, p. 31-42, 1983.

ARMSTRONG, D.T., PFITZNER, A.P., WARNES, G.M., SEAMARK, R.F. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora Goats. Journals of Reproduction & Fertility. V. 67, p. 403-410, 1983

ASHWORTH, C.J., SALES, D.I., WILMUT, I. Evidence of na association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. **Journals of Reproduction & Fertility**, v.87, p. 23-32, 1989.

BARI, F., KHALID, M., HARESIGN, W., MURRAY A., MERRELL, B. Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program. **Theriogenology**, v.59, p. 1265-1275, 2003.

BICUDO, S.D., SARTORI FILHO, R., CURI, P.R. Distribuição do índice de massa corpórea (IMC-QUETELET) de acordo com a época do ano e estado gestacional em vacas Nelores, In: Congresso Brasileiro Reprodução Animal, 11, 1995, Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.373, 1995.

BOUCINHAS, CC; SIQUEIRA, ER; MAESTÁ, AS. Dinâmica do peso e da condição corporal e eficiência reprodutiva de ovelhas da raça Santa Inês e mestiças Santa Inês-Suffolk submetidas a dois sistemas de alimentação em intervalos entre partos de oito meses. **Ciência Rural**, v.36, p.904-909, 2006.

BREUL, K.F., BAKER, R.D., BUTHER, R.L., TOWNSEND, E.C., INSKEEP, E.K., DAILEY, R.A. The effect of breed, age of donor and dosage of follicle-stimulating

hormone on the superovulatory response of beef-cows. **Theriogenology**, v. 36, p. 241-255, 1991.

BROADBENT, PJ. Management of bovine embryo transfer recipients. **Embryo Transfer Newsletter**, v. 10, p. 18-24, 1992.

COLAS, G., THIMONIER, J., COUROT, M., OORTAVANT, R. Fertilité, prolificité et fecondité pendant La saison sexuelle dês brebis inséminées artificiale après traitement après traitement a l'acetate de fluorogestone. **Ann Zootech**, v. 22, p. 441-451, 1973.

COLEMAN, D. A., DAILEY, R. A., LEFFEL, R. E., BAKER, R. D. Estrous synchronization and establishment of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. **Journal of Dairy Science**. v.70, p. 858, 1987.

DONALDSON L.E. Matching of embryo stages and grades with recipients oestrus synchrony in bovine embryo transfer. **Veterinary Record**, v. 117, p. 489-491, 1985.

ELSDEN, P. **Bovine embryo transfer**. In: CURSO INTERNACIONAL DA STRACTA. Brasília, 1985, Manual...Brasília-DF. cap. 13, p. 1-42, 1985.

FUCK, E.J., MORAES, G.V., MARTINS, E.N., FALCÃO, A.J.S., RODRIGUES, C.M., CARDOZO, R.M., BARROS, C.M. Uso da gonadotrofina coriônica equina em receptoras de embriões para avaliar o incremento da progesterona endógena no dia da inovulação e sua correlação com a taxa de prenhez. **Acta Scientiarum Maringá**, v. 24, n. 4, p. 1119-1126, 2002.

GABIÑA, D, FOLCH, J. Artificial insemination in sheep. Results of its use in a selection programme for Aragon sheep. **Información Técnica Económica Agraria**, v. 68, p. 15-25, 1987.

GOODMAN, L.A. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial populations. **Ann. Math. Stat.**, v.35, p.716-725, 1964.

GOODMAN, L.A. On simultaneous confidence intervals for multinominal proportions. **Techometrics**, v.9, p.247-254, 1965.

HASLER, J.F., BOWEN, R.A., NELSON, L.D., SEIDEL Jr, G.E. Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers. **Journals of Reproduction & Fertility**, v. 58, p. 71-78, 1980.

HASLER, J.F., McCAULEY, A.D., LATROP, W., FOOTE, R.H., ELIZABETHTOWN, P.A. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large scale bovine embryo transfer program. **Theriogenology**, v. 27, v. 139-168, 1987.

LOONEY, C.R. ODEN, A.J., MASSEY, J.M., JOHNSON, C.A., GODKE, R.A. Pregnancy rates following hCG administration at the time of transfer in embryo recipient cattle. **Theriogenology**, v. 21, p. 246, 1984. (resumo).

MANN GE, LAMMING GE, ROBINSON RS, WATHES DC. The regulation of interferon-ô production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.54, p.317-28, 1999.

MARQUES, M.O., MADUREIRA E.H., BÓ G.A., BARUSELLI P.S. Ovarian ultrasonography and plasma progesterone concentrations in Bos taurus x Bos indicus heifers administered different treatments on day 7 of the estrous cycle. **Theriogenology** v. 57, p.548, 2002.

MCNEILLY, AS; JONASSEN, JA; RHIND SM. Reduced ovarian follicular development as a consequence of low body condition in ewes. **Acta Endocrinol** (Copenh). v.115, p.75-83, 1987 (resumo).

POPE, W. F., LAWYER, M.S., NARA, B.S., FIRST, N.L. Effect of asynchronous superinduction on embryo survival and range of blastocyst development in swine. **Biology of Reproduction** v.35, p.133–137, 1986.

REMSEN, L.G., ROUSELL, J.D., KARIHALOO, A.K. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipientes heifers at day of transfer. **Theriogenology**, v. 18, p. 365-372, 1982.

SPITZER, J.C. Influences of nutrition on Reproduction in Beef Cattle. In: MORROW, D.A. (Ed.) **Current therapy in theriogenology**. Philadelphia: Saunders Co, p. 320-341, 1986.

SREENAN, J.M., DISKIN, M.G. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. **Theriogenology**, v. 27, p. 99-113, 1987.

THOMPSON, J.G., MEYER, H. Body Condition Score of Sheep. Disponível em: http://oregonstate.edu/dept/animal-sciences/bcs.htm Acesso em 12 de Outubro de 2009.

WEST, KS; MEYER, HH; NAWAZ, M. Effects of differential ewe condition at mating and early postmating nutrition on embryo survival. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 3931-3938, 1991.

YAMI, A., GIPSON, T.A., MERKEL, R.C. Estimation of weight and age of sheep and goats. Disponível em: http://www.esgpip.org/PDF/Technical%20bulletin%20No.23.pdf Acesso em 12 de Outubro de 2009.

YANG, O.S.J., LEE, M.S., SEONG, H.H., JUNG, J.K., KANG, H.J. A study of twin production by embryo transfer following artificial insemination in Korean native cows. **Journal of Agricultural Science**, v. 35, p. 507-512, 1993.

ZAAR, J.H. Biostatical analysis, 4th ed. Prentice Hall, New Jersey, 663 p. 1999

REVISTA CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA

Diretrizes para Autores

Os trabalhos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol. Os textos devem ser organizados da seguinte forma: 1- título; 2- nomes dos autores (por extenso); 3- filiação científica (informar departamento, instituto ou faculdade, universidade, CEP,cidade, estado país e e-mail); 4- resumo (na língua principal do texto e em inglês - Summary, com um máximo de 200 palavras); 5- palavras-chave (máximo de cinco, apresentadas na língua do texto e em inglês - Keywords); 6- introdução; 7- material e métodos; 8- resultados e discussão (separados se necessário);9- conclusões; 10- agradecimentos (se necessário) e 11- referências bibliográficas, em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor e seguir a NBR 6023, da ABNT.

Nota Cientifica (inclui o formato de Relato de Caso, Comunicação de Pesquisa ou Nota Prévia): --Aviso: temporariamente não estão sendo aceitos para submissão artigos destes tipos--

Contempla principalmente áreas médicas ou achados que devam ser divulgados anteriormente à publicação do artigo, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada. Podem ser considerados como elementos do corpo do texto: Introdução, Material e Métodos ou Casuística (de acordo com a situação), Resultados, Discussão e Conclusões (quando pertinentes). No geral, essas publicações estão sujeitas às mesmas características de avaliação dos artigos científicos, respeitadas suas peculiaridades.

Itens de Verificação para Submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

A contribuição é original, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista.

Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapasse os 2MB). No arquivo da submissão, excluir apenas os nomes e identificação dos autores, todos os outros elementos (título em português e em inglês, resumo, palavras chave, abstract e key words) devem permanecer no arquivo. O preenchimento do cadastro inclui todos os autores envolvidos (máximo de 6 autores), selecionando o contato principal. Atentar para o item 6 destas normas.

Todos os endereços de URLs no texto (Ex.: http://www.ibict.br) estão ativos e prontos para clicar.

O texto está em espaço 1,5 com linhas numeradas; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.

O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.

A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos). Os nomes de TODOS os autores, com sua respectiva identificação institucional, foi cadastrada nos metadados da submissão, usando a opção incluir autor. Em caso de citação de autores, "Autor" e ano são usados na bibliografia, ao invés de Nome do autor, título do documento, etc.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.