

## Avaliação da Taxa de Fertilidade em Ovelhas Inseminadas com Sêmen Resfriado Comparada à Monta Natural

### Evaluation of Fertility Rate in Sheep Inseminated with Cooled Semen in comparison to Natural Breed

Silvio Pereira Gomes<sup>a\*</sup>; Giancarlo de Moura Souza<sup>b</sup>; Paola Fagundes Pires Silveira<sup>c</sup>

#### Resumo

O experimento comparou as taxas de prenhez em ovelhas da raça Santa Inês submetidas à inseminação artificial e monta natural, com o intuito de avaliar a viabilidade da técnica e a funcionalidade do sêmen ovino resfriado a 5°C graus de temperatura. O experimento foi realizado no período de setembro e outubro de 2009, tendo sido utilizadas 40 fêmeas de ovinos da raça Santa Inês, submetidas à sincronização de cio e divididas em dois grupos: G1 (n=20), utilizando-se inseminação artificial transcervical com sêmen resfriado e G2 (n=20), monta natural. Os grupos diferiram significativamente ( $p<0,05$ ) quanto à taxa de prenhez. O grupo 1 apresentou 0%, enquanto que o grupo 2 obteve 25% de taxa de prenhez. Conclui-se que nas condições experimentais, a IATF não se mostrou viável em ovelhas paridas em anestro e fora da estação reprodutiva.

**Palavras-Chave:** Ovinos. Inseminação Artificial. Prenhez.

#### Abstract

*The experiment compared the pregnancy rates in sheep of Saint Agnes breed submitted to artificial insemination and major natural, aiming to evaluate the viability of the technique and the ovine semen functionality when cooled at 5C degrees. The experiment was carried out during the months of September and October, 2009. Forty Saint Agnes female sheep have been used submitted to rutting synchronization and divided into two groups: G1 (n=20), using transcervical artificial insemination with cooled semen and G2 (n=20), major natural. The groups differed significantly ( $p<0.05$ ) regarding the pregnancy rate. Group 1 presented 0%, while group 2 received 25% of pregnancy rate. It can concludes that under the experimental conditions, the IATF was not viable in ewes calved in anestro and outside the reproductive season.*

**Keywords:** Sheep. Artificial Insemination. Pregnancy.

<sup>a</sup> Graduado em Medicina Veterinária - Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) E-mail: silvao.gomes@gmail.com.

<sup>b</sup> Mestrando em Zootecnia - Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Pesquisador da EMBRAPA. E-mail: giancarlo\_moura@hotmail.com.

<sup>c</sup> Graduada em Medicina Veterinária - Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). E-mail: paolasilveiravet@gmail.com

\* Endereço para correspondência: Rua Paissandu, 1207, Bairro Amambá. CEP: 79005-070. Campo Grande, MS.

#### 1 Introdução

O Brasil possui aproximadamente 15.588.041 cabeças de ovinos, sendo que na região Nordeste é onde se concentra o maior número de animais com cerca de 9.109.668 e as demais regiões da federação apresentam diferentes percentuais. A atividade no Estado de Mato Grosso do Sul acena para a possibilidade de se tornar em pouco tempo um negócio lucrativo<sup>1</sup>.

O mercado da carne de ovinos é altamente comprador e a atividade vem crescendo a passos largos, em todas as regiões do país, destacando-se as regiões Nordeste, Centro Oeste e Norte. O consumo de carnes e derivados no país é altamente favorável à ovinocultura, e encontra-se em pleno processo de expansão, pois as estatísticas oficiais mostram um consumo médio de 0,700g habitante/ano<sup>1</sup>.

A utilização de tecnologias reprodutivas, a exemplo da inseminação artificial apresenta importante ferramenta

na melhoria do potencial produtivo dos rebanhos ovinos. A inseminação artificial com sêmen resfriado apresenta como fator positivo a facilidade de preparação bem como os resultados de fertilidade alcançados a campo, trazendo com isto a possibilidade de uso massivo<sup>2</sup>.

Dentre as biotécnicas da reprodução, a inseminação artificial (I.A.) é aquela que propicia maior amplitude de resultados nos programas de melhoramento genético do rebanho. Conforme Silva Sobrinho<sup>3</sup> a tecnologia pode ser empregada como instrumental na intensificação do manejo reprodutivo dos ovinos, sabendo-se que a criação da espécie é ainda muito precária e existem poucos profissionais em toda região Centro Oeste do país.

Segundo Leão<sup>4</sup>, o uso da inseminação artificial acelera o melhoramento genético, viabiliza a obtenção de produtos de reprodutores alojados em outros países ou até mesmo que já morreram, evita a transmissão de doenças venéreas e facilita a realização de testes de progênie além de possibilitar que machos subfêrteis produzam filhos. Todavia, Hafez<sup>5</sup> salienta que diferentemente de bovinos, a I.A. de ovelhas e cabras tem sido limitada, devido ao alto custo do trabalho, à dificuldade de identificar acuradamente reprodutores superiores e aos baixos índices de concepção, especialmente com sêmen congelado.

Segundo Rabassa<sup>12</sup> a I.A. com sêmen congelado é uma biotécnica reprodutiva ainda pouco utilizada na espécie ovina. Um dos principais fatores limitantes ao uso desta técnica é

a baixa resistência do sêmen de carneiro ao congelamento, provocando a diminuição da sua qualidade após tal processo. O sêmen resfriado constitui uma alternativa tecnológica capaz de melhorar a distribuição do mesmo possibilitando a melhoria do rebanho nacional. Sendo que este poderá ser utilizado a uma distância considerável do local de coleta, favorecendo sua utilização em larga escala<sup>2</sup>.

O emprego de sêmen resfriado vem se tornando cada vez mais popular, aumentando significativamente seu uso durante a última década, em decorrência da praticidade e viabilidade espermática desta biotécnica<sup>6</sup>.

A duração normal do ciclo estral é de 17 dias para ovelhas<sup>5</sup> e os métodos empregados na manipulação do ciclo estral dos ovinos estão divididos em dois grupos: o método natural ou efeito macho e os métodos artificiais, com uso de hormônios<sup>3</sup>.

Entretanto, existe necessidade de se tracionar a cérvix, e com as dificuldades anatômicas encontradas, o possível trauma ocorrido durante a IA e instrumental pouco eficiente podem gerar quedas nas taxas de fertilidade da IA em ovelhas<sup>7</sup>.

Outro fator importante é que a profundidade da deposição do sêmen na cérvix influi positivamente na eficácia da inseminação, sendo que quanto mais profunda a localização de deposição do sêmen, maiores são as taxas de prenhez, principalmente para sêmen congelado<sup>8</sup>.

Dessa maneira, o objetivo desse trabalho foi tentar avaliar a inseminação artificial em comparação a monta natural, podendo assim identificar aspectos que serviram como desafio para realização dessa técnica para este tipo animal.

## 2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no Instituto São Vicente, Fazenda Experimental Lagoa da Cruz, da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), localizada no município de Campo Grande – MS, no período de 4 de setembro a 20 de outubro de 2009. A posição geográfica da fazenda é: Latitude 20° 23'00" e Longitude 54° 36'00" em uma elevação de 636 metros em relação ao nível do mar.

Utilizou-se sêmen de dois reprodutores ovinos das raças Dorper e White Dorper manejados a pasto, com idade entre 18 e 24 meses, previamente aprovados em exame andrológico, sendo que a coleta do sêmen foi realizada com auxílio de eletroejaculador. Após uma única coleta do ejaculado, foram observados macroscopicamente dados como volume e aspecto, e microscopicamente dados de motilidade progressiva em escala de 0 a 100%, vigor espermático em escala de 0 a 5. Também foram analisadas a concentração através da contagem pela câmara de Neubauer e morfologia espermática, utilizando microscópio óptico.

O sêmen foi diluído utilizando o diluente e crioprotetor Bioxcell®-IMV, que contém lecitina de soja, extrato vegetal. Este produto é feito especialmente para uso em sêmen bovino e ovino, possui meio límpido, translúcido, apresenta-se de forma líquida concentrada, incluindo glicerol e antibióticos,

mas não contém gema de ovo. A lecitina de soja contida no Bioxcell®-IMV possui material de alto peso molecular que previne o choque ao frio, assim como a gema de ovo ou leite. Também têm aditivos crioprotetores como Glicerol, Propanediol ou Dimetilsulfoxide. Após a diluição o sêmen foi refrigerado em tubos de ensaio, passando de 30°C para 5°C em 4 horas. Seguinte a essa etapa o sêmen foi envasado em palhetas de 0,25ml e conservado sob refrigeração em caixa de isopor com gelo para transporte até o local da inseminação artificial.

Foram utilizadas 40 ovelhas da raça Santa Inês, separadas de acordo com os grupos a serem avaliados: grupo 1 (G1=20) e grupo 2 (G2=20), com idade média de 4 anos, escore corporal de 2,5 a 3,0 (escala de 0 a 5), mantidas em sistema semi-extensivo, e submetidas a exame de ultra-sonografia (U.S.) com transdutor linear rígido 7,5 MHz trans-retal, para exame ginecológico.

Em ambos os grupos, realizou-se sincronização de cio, por meio de aplicação de implante intra-vaginal de progesterona e posterior aplicação de prostaglandina F2 $\alpha$ . O implante intra-vaginal (0,33g Eazi-breed CIDR) foi aplicado no dia 0, permanecendo por nove dias. No dia 9, foi retirado o implante e administrado 0,03 mg de prostaglandina F2 $\alpha$  (Prolise D-cloprosterol) injetável, por via intra muscular.

No grupo 1 (G1=20) a inseminação artificial foi realizada 54 horas após a aplicação de prostaglandina F2 $\alpha$ . No grupo 2 (G2=20), os carneiros reprodutores foram introduzidos no lote, imediatamente após a aplicação de prostaglandina F2 $\alpha$ , para monta natural, permanecendo durante três dias.

A inseminação artificial transcervical foi precedida de limpeza da região vulvar com papel-toalha e colocação de espéculo vaginal. A cérvix foi fixada com utilização de pinça Allis, sendo tracionada até a abertura vulvar, com o objetivo de diminuir a sua sinuosidade. A pinça foi esterilizada e mantida em solução de iodo 2% entre os procedimentos.

Todas as ovelhas foram inseminadas independentemente do aparecimento do estro, sendo que se utilizou um "pool" de sêmen dos dois reprodutores para a inseminação.

Na monta natural utilizaram-se os mesmos reprodutores doadores de sêmen para a inseminação artificial, na proporção de 01 macho para cada 10 ovelhas.

Para o diagnóstico gestacional utilizou-se aparelho de ultra-sonografia (U.S.) equipado de transdutor linear rígido 7,5 MHz trans-retal, realizado trinta dias após a inseminação artificial no grupo 01 e 30 dias após a retirada dos carneiros reprodutores do lote de ovelhas para o grupo 02.

## 3 Resultados

Os resultados de prenhez foram de 0% (0/0) no lote inseminado com sêmen resfriado, e de 25% (5/20) no lote sincronizado e submetido à monta natural com carneiros, apresentando diferença estatística no teste de Qui-quadrado (P=0,016).

**Tabela 1:** Taxa de prenhez em ovelhas inseminadas por via transcervical e submetidas à monta natural

Grupos	Vazias	Prenhes	% Prenhez
Inseminadas	20	0	0
Monta Natural	15	5	25

#### 4 Discussão

Os resultados obtidos com a inseminação artificial ficaram abaixo de resultados observados em outros trabalhos. Rabassa<sup>12</sup> observou taxas de 25.0% na técnica de inseminação cervical superficial, 43.7% cervical médio, 41.7% cervical profundo, em experimento realizado com ovelhas da raça Corriedale, no Município de Dom Pedrito - RS. Entretanto, Milczewski et al.<sup>9</sup> conseguiram 8,33% de prenhez utilizando sêmen resfriado, inseminando via cervical, em trabalho realizado com ovelhas mestiças da raça Suffolk.

Observa-se que taxas de prenhez em monta natural aproximam-se de 80-90%<sup>3</sup>. Segundo Bicudo<sup>10</sup> independente da especialização ou raça, no hemisfério Sul a época mais favorável para reprodução da espécie ovina ocorre nos meses de março a maio. As fêmeas ovinas são poliéstricas estacionais de dias curtos, nos quais apresentam maior atividade sexual, coincidindo com as estações de outono e inverno, permanecendo em anestro ou diminuindo sua atividade sexual durante as demais estações do ano<sup>11</sup>.

Outros fatores que podem afetar a eficácia da I.A. transcervical dizem respeito às variações individuais quanto à conformação da cérvix e época do ano<sup>12</sup>. Em nosso trabalho as ovelhas foram inseminadas na via cervical superficial, onde não houve a passagem do aplicador pela cérvix, sendo o ejaculado liberado no colo uterino.

Aspecto relevante a ser observado é o fato de que a ovelha apresenta excelente competência no fechamento do canal cervical, decorrente do maior pregueamento cervical interno determinando a formação de quatro a seis constrições (anéis) com intenso desalinhamento entre eles, dificultando a transposição cervical por aplicadores de sêmen mesmo durante a vigência do estro<sup>10</sup>.

Assim, a ovelha apresenta como fatores limitantes os baixos índices de fertilidade na inseminação intra-cervical, em decorrência da dificuldade de transposição do cérvix<sup>2</sup>.

Milczewski et al.<sup>9</sup> afirmam que muitas tentativas têm sido feitas para superar a barreira cervical em ovelhas e alcançar o útero, tendo como objetivo, aumentar as taxas de parição após a inseminação com sêmen conservado.

O intenso manejo dos rebanhos na inseminação artificial convencional durante semanas, sob condições de clima desfavorável, restrição alimentar, bem como infraestrutura física inadequadas para manejo e deficiência de pessoal devidamente qualificado, pode determinar sérios comprometimentos na eficácia desta biotécnica, levando a baixos índices de gestação<sup>11</sup>. Observando os resultados de prenhez, com a utilização, pode-se dizer que é indispensável o

fornecimento de uma dieta de qualidade, condições de manejos favoráveis, além de mão de obra qualificada, podendo essa última explicar tais resultados, assim como os outros fatores.

Milczewski et al.<sup>9</sup> afirmam ainda que, espermatozoides congelados ou refrigerados apresentam reduzida fertilidade após a inseminação cervical quando comparados ao sêmen fresco ou à inseminação intra-uterina por laparoscopia, comprometendo os resultados de concepção.

Para Medeiros<sup>2</sup> um dos principais problemas que reduzem o uso da I.A., na espécie ovina deva-se aos processos de conservação espermática, que favorecem a redução da viabilidade das células. Pois, quando a fêmea ovina é inseminada pela deposição do sêmen na cérvix, a quantidade de espermatozoides que transpõem os anéis cervicais é baixa, resultado em índices de fertilidade insatisfatória.

Para se obter sucesso na preservação dos espermatozoides pelo resfriamento, é necessário seguir uma série de passos que favorecem a redução de danos causados às células. Tais passos propiciam longevidade *in vitro* e *in vivo*, a saber: taxa de diluição adequada, diluentes, substâncias protetoras, taxas adequadas de resfriamento e manutenção em temperaturas específicas que reduzem o metabolismo, diminuem os danos na membrana, sem desencadear prematuramente a capacitação de ação acrossômica<sup>2</sup>.

Segundo Bicudo<sup>10</sup> a adoção e viabilização da técnica de I.A. exigem um módulo mínimo do rebanho para que haja retorno econômico adequado. Em todos os casos deve-se questionar se a monta natural, não é a opção que melhor atende aos interesses econômicos e do programa de melhoramento genético a ser implementado.

#### 5 Conclusão

A Inseminação artificial por tempo fixo em ovinos, utilizando sêmen resfriado, não é viável quando os animais não se encontram em período de monta, devido à dificuldade da passagem do primeiro anel cervical.

É necessária a utilização de mão de obra especializada, e outros fatores como estacionalidade reprodutiva e escore corporal das ovelhas, devem ser observados, pois estes podem contribuir de forma significativa, garantindo sucesso na realização da técnica.

Mesmo assim devem ser buscadas alternativas para que essa técnica seja implantada de forma mais eficaz na reprodução de ovinos, tendo em vista que I.A. é importante ferramenta para genética e produção animal.

#### Referências

1. Michels I, Rodrigues JD, Lucena LP, Carvalho AO, Oliveira A. Proposta de elaboração de estudo da cadeia produtiva da ovinocultura em Mato Grosso do Sul. Campo Grande: Facsul; 2006.
2. Medeiros BF. Avaliação de sêmen ovino refrigerado diluído em água de coco em pó. Campina Grande. Dissertação [Mestrado em Medicina Veterinária] - Universidade Federal de Campina Grande; 2008.

3. Silva Sobrinho AG. Criação de ovinos. Jaboticabal: Funep; 2006.
4. Leão KM. Técnicas de inseminação artificial. Monografia. [Pós-Graduação em Medicina Veterinária] - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista; 2003.
5. Hafez B, Hafez ESE. Reprodução animal. Barueri: Manole; 2004.
6. Figueirêdo EL, Nunes JF, Cordeiro MA, Souza PT, Diógenes Filho RN, Vieira VE *et al.* Inseminação artificial de ovelhas da raça santa Inês com sêmen diluído em água de coco in natura e em pó. *Rev Bras Cienc Vet* 2007;14(2):95-7.
7. Wulstr-Radcliffe MC, Wang S, Lewis GS. Transcervical artificial insemination in sheep: Effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rates. *Theriogenology* 2004;62:990-1002.
8. Karagiannidis A, Varsakeli S, Karatzas G, Brozos C. Effect of time of artificial insemination on fertility of progestagen and PMSG treated indigenous Greek ewes, during non-breeding season. *Small Ruminant Research* 2001;39:67-71.
9. Milczewski V, Kozicki LE, Luz SLN, Neves JP. Inseminação artificial intra-uterina e cervical em ovelhas utilizando sêmen refrigerado. *Arch Vet Scienc* 2000;5:35-9.
10. Bicudo SD, Azevedo HC, Silva Maia MS, Sousa DB, Rodello L. Aspectos peculiares da inseminação artificial em ovinos. *Acta Sci Vet* 2005;33(1):127-30.
11. Gonçalves PBD, Figueiredo JR, Freitas VJF. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. São Paulo: Varela; 2002.
12. Rabassa VR, Tabeleão VC, Pfeifer LFM, Schneider A, Ziguier EA, Schossler E. *et al.* Efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo-fixo. *Cienc Anim Bras* 2007;8(1):127-33.