

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Inseminação Artificial em Pequenos Ruminantes

Rodrigo Alves Monteiro

2009



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Inseminação Artificial em Pequenos Ruminantes

Rodrigo Alves Monteiro
-Graduando-

Prof^o.: Dr^o.: Carlos Enrique Peña Alfaro
-Orientador-

Patos - PB
Abril de 2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

RODRIGO ALVES MONTEIRO
Graduando

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Medico Veterinário.

APROVADO EM/...../.....

EXAMINADORES

Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro
Orientador

Prof.^a Dr.^a. Norma Lúcia de Souza Araújo
Examinadora I

Prof. Msc. Francisco Roserlândio Botão Nogueira
Examinador II

Dedico

*Aos meus pais, que sempre
se esforçaram ao máximo
para me dar tudo do bom e
do melhor, principalmente
educação de qualidade.*

AGRADECIMENTOS

A Deus todo poderoso, geralmente a ciência nos afasta de Deus, no meu caso a ciência me aproximou de Deus, nas horas difíceis encontrei conforto nele.

SUMÁRIO

	Págs.
LISTA DE FIGURAS.....	
RESUMO.....	
ABSTRACT.....	
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 HISTORICO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	03
2.2 COLETA DE SÊMEN.....	04
2.3 AVALIAÇÃO DO SÊMEN.....	08
2.4 FORMAS DE UTILIZAÇÃO DO SÊMEN.....	10
2.4.1 SÊMEN PURO OU DILUIDO.....	10
2.4.2 SÊMEN REFRIGERADO.....	11
2.4.3 SÊMEN CONGELADO.....	12
2.5 TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO EM PEQUENOS RUMINANTES.....	13
2.5.1 MÉTODO VAGINAL.....	14
2.5.2 MÉTODO CERVICAL.....	16
2.5.2.1 VIA TRANSCERVICAL.....	17
2.5.3 MÉTODO LAPAROSCOPIO OU INTRA-UTERINO.....	20
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	24
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Eletroejaculadores para ruminantes. (A) eletroejaculador para grandes ruminantes, (B) eletroejaculador para pequenos ruminantes.....	05
Figura 2. Vagina Artificial para pequenos ruminantes.....	06
Figura 3. Estrutura da vagina artificial para pequenos ruminantes.....	06
Figura 4. Manequim para ovinos.....	07
Figura 5. Coleta de sêmen com vagina artificial.....	07
Figura 6. Inseminação Artificial pelo método vaginal.....	15
Figura 7. Inseminação Artificial pelo método vaginal.....	15
Figura 8. Tronco de contenção.....	16
Figura 9. Via Transcervical.....	18
Figura 10. Classificação quanto à direção e a máxima profundidade de penetração em inseminação artificial em ovelhas (a) grau 1, (b) grau 2 e (c) grau 3.....	20
Figura 11. Cadeira de contenção para inseminação por laparoscópica.....	22
Figura 12. Materiais utilizados, no método de inseminação artificial por laparoscopia.....	22
Figura 13. Método de inseminação artificial por laparoscopia ou intra-uterino.....	23
Figura 14. Esquema do método laparoscópico.....	23

RESUMO

MONTEIRO, RODRIGO ALVES. Inseminação artificial em pequenos ruminantes. Trabalho de conclusão de curso – Monografia (Curso de Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2009.

A produção de pequenos ruminantes apresenta-se em franca expansão tecnológica, sobretudo nos países em desenvolvimento. O aumento da produtividade agregada ao melhoramento genético está atrelado ao uso das diversas biotecnologias de reprodução assistida, dentre elas ressaltamos a inseminação artificial. Esse trabalho tem por objetivo fazer uma revisão literária sobre a técnica de inseminação artificial em seu amplo aspecto; coleta de sêmen, os métodos pelos quais é feita a coleta de sêmen; (vagina artificial e eletroejaculação), avaliação do sêmen; (volume, cor, pH, aspecto, movimento massal, concentração, motilidade individual progressiva, vigor e morfologia espermática e por fim índices de sobrevivência), as formas de utilização do sêmen; (puro ou diluído), formas de acondicionamento do sêmen; (refrigerado ou congelado) e as principais técnicas de inseminação; vaginal (VAI), cervical (CAI), transcervical (TAI), e laparoscópico (LAI), observando também a viabilidade da utilização da técnica, enfatizando o manejo sanitário e nutricional adequado, pois só dessa forma haverá sucesso na técnica, portanto foram observadas as técnicas atuais e as inovações na inseminação dos pequenos ruminantes, pois o uso e aprimoramento destas técnicas podem acelerar a produção e desenvolvimento tecnológico nessas espécies aumentando assim a eficiência produtiva e incrementando o desenvolvimento de regiões desfavorecidas.

Palavras chave: Pequenos ruminantes, inseminação artificial, biotecnias, melhoramento do rebanho.

ABSTRACT

MONTEIRO, RODRIGO ALVES. Artificial insemination in small ruminant.
Conclusion Course Work – Monograph (Veterinary Medicine Course) – Universidade
Federal de Campina Grande, Patos city, 2009.

The production of small ruminant is in a high tech expansion, particularly in developing countries. The increase in productivity along with the genetic improvement is closely related to the use of assisted reproductive techniques, among them we emphasized the artificial insemination. That work has for objective to do a literary revision on the artificial insemination technique in its wide aspect; semen collection, the methods for which it is made the semen collection; (artificial vagina and electrical ejaculation), evaluation of the semen; (volume, color, pH, aspect, mass movement, concentration, progressive individual mobility, energy and morphology spermatic and finally survival rate), the forms of use of the semen; (pure or diluted), forms of packaging of the semen; (refrigerated or frozen) and the main insemination techniques; vaginal (VAI), cervical (CAI), transcervical (TAI), and laproscopic (LAI), also observing the viability of the use of the technique, emphasizing the sanitary and appropriate nutritional handling, because only in that way there will be success in the technique, therefore the current techniques and the innovations were observed in the insemination of the small ruminant, because the use and improvement of these techniques can accelerate the production and technological development in those species increasing in this way the productive efficiency and increasing the development unfavorable of areas.

Words key: Small ruminant, artificial insemination, biotechnologies, improvement of the flock.

1. INTRODUÇÃO

A criação ovina e caprina apresenta importância econômica no Brasil, contando com dois grandes pólos de criação: a região Sul e a região Nordeste, cada qual com características próprias, entre as quais o sistema de criação, aptidão zootécnica e tipos de raças.

Cada vez mais o uso de tecnologias reprodutivas vem dando um grande impulso a estas criações, entre estas, a inseminação artificial, que é realizada mediante a deposição mecânica do sêmen, no aparelho reprodutivo da fêmea. Entre as diversas biotécnicas atualmente empregadas, a inseminação artificial é a que demonstra a maior viabilidade econômica e facilidade na implantação entre diferentes espécies domésticas, onde seu uso já se tornou consagrado, (VIANA, *et al.* 2000), tornando-se de fácil acesso para pequenos e médios produtores, de custos relativamente baixos, comparando com as outras biotécnicas. Essa técnica pode ser empregada com sêmen *in natura*, diluído, resfriado ou congelado-descongelado. (GONZALES, *et al.* 2002).

A utilização de biotécnicas reprodutivas, entre elas a inseminação artificial (IA), associada a programas de melhoramento genético tem possibilitado avanços significativos no aumento da produtividade dos pequenos ruminantes que está diretamente ligada ao desempenho reprodutivo, sendo maximizado quando da adoção de um manejo nutricional e sanitário adequado. (CARNEIRO, *et al.* 2007). Dessa forma há um melhoramento nos rebanhos, dada à utilização de reprodutores de mérito genético comprovado.

A maior vantagem da inseminação artificial é a propagação do patrimônio genético superior já que reprodutores altamente selecionados produzem espermatozoides suficientes para inseminar milhares de fêmeas por ano, enquanto que poucas fêmeas poderiam ser

fecundadas por estes reprodutores se fossem servidas em monta natural. Além disso, minimiza os riscos de transmissão de doenças contagiosa no rebanho (MONACO, 2007). Deve-se ter presente que a I.A. é somente uma ferramenta de melhoramento genético, no qual sua finalidade é brindar a possibilidade da realização de um manejo amplo e dirigido aos seus serviços. (GIBBONS, *et al.* 2004).

Nos ovinos e caprinos, existem várias técnicas de I.A.: vaginal, cervical, transcervical e laparoscopia (intra-uterina). (FERNANDES, 2008). Com a presente revisão de literatura objetiva-se abordar os diversos aspectos relacionados à inseminação artificial em pequenos ruminantes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

No século XIV um chefe árabe, usando de artifícios, impregnou uma pasta de algodão com secreções de uma égua em cio. Aproximando-se do melhor garanhão da tribo rival, conseguiu excitá-lo com as secreções da fêmea, a ponto de obter uma ejaculação. O sêmen foi recebido em outra pasta e introduzido em outra fêmea e posteriormente se deu o nascimento de um potro. (MIES FILHO, 1975).

A mais antiga documentação sobre a utilização da I.A. data de 1780, quando o fisiologista italiano Spallanzani conseguiu o nascimento de cães. Porém outras comunicações surgiram no século XIX; todavia, apenas a partir de 1900 estudos extensos com animais domésticos foram iniciados na Rússia, imediatamente seguidos pelo Japão. (HAFEZ, 2004).

A inseminação artificial em ovinos foi realizada em 1901 a 1905 por Ivanov. Os estudos serviram como bases para Quinlan, Maré e Roux no ano de 1932, que observaram a vitalidade dos espermatozóides nas genitais das ovelhas, a primeira vagina artificial para espécie ovina foi construída por Kusenov. O emprego de seringas para injeções de microdose de sêmen e o lançamento das bases teóricas para diluição do mesmo foi iniciado por Gunn no ano de 1936. (MIES FILHO, 1975).

A inseminação nos caprinos destacou-se em países como Alemanha, Holanda, França e Índia. Na Alemanha nos anos de 1948 foram inseminadas 300 fêmeas e em 1962 foram inseminadas 32.000 cabras. (MIES FILHO, 1975). O maior volume de trabalho nesta espécie se fez no Japão, que inseminou cerca de 10% do total e chegou aos 35 mil ventres em 1960. (MIES FILHO, 1987), superando os números anteriores da Alemanha.

As primeiras inseminações artificiais no Brasil em ovinos foram realizadas pelo Ministério da Agricultura no Rio Grande do Sul na década de 40. O primeiro posto oficial foi implantado em 1943, na fazenda Cinco Cruzes, em Bagé, onde se encontra o atual Centro de Pesquisa de Pecuária dos Campos Sulbrasilieiros da Embrapa. Nos caprinos as primeiras inseminações ocorreram na década de 1970. A partir de 1976, quando foi criado o Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos – Embrapa Caprinos, em Sobral – CE. O método foi utilizado por pequenos produtores nos estados do Ceará, Alagoas e Piauí utilizando sêmen de reprodutores importados da França. (GONÇALVES, *et al.* 2008).

2.2 COLETA DE SÊMEN

Em pequenos ruminantes podemos usar dois métodos para coleta de sêmen: por eletroejaculação E.E. e por vagina artificial V.A.. O método por E.E. é realizado através uma sonda colocada no reto do macho, há um estímulo de baixa voltagem aplicado por 2 a 4 segundos com intervalos de 10 a 20 segundos até que ocorra a ejaculação. As coletas de sêmen por E.E. são muito variáveis quanto à concentração espermática e o volume de sêmen. O método por eletroejaculação é extremamente estressante, portanto ele só deve ser usado em casos de extrema necessidade. (HAFEZ, 2004). O aumento da frequência de ejaculação não altera, no entanto, a qualidade dos espermatozoides são alterados. (SALAMON; MAXWELL, 1995).



Figura 1. Eletroejaculadores para ruminantes. (A) eletroejaculador para grandes ruminantes, (B) eletroejaculador para pequenos ruminantes.

O método por V.A. é o mais indicado, pois apresenta características muito próximas a cópula, permitindo avaliar a *potentia coeundii* do reprodutor (GONÇALVES, *et al.* 2008). A V.A. consiste em um tubo de 20 a 25 centímetros de comprimento, e 5 a 7 centímetros de diâmetro e uma mucosa de borracha. A mucosa deve ser lubrificada e estar numa temperatura entre 42°C e 46°C. O reprodutor deve saltar sobre um manequim ou sobre uma fêmea, o pênis deve ser delicadamente desviado para dentro da vagina artificial. A pressão interna da vagina varia conforme os reprodutores. O tubo coletor deve estar aquecido a 37°C para evitar choque térmico. (FERRA, *et al.* 2006).



Figura 2. Vagina Artificial para pequenos ruminantes.

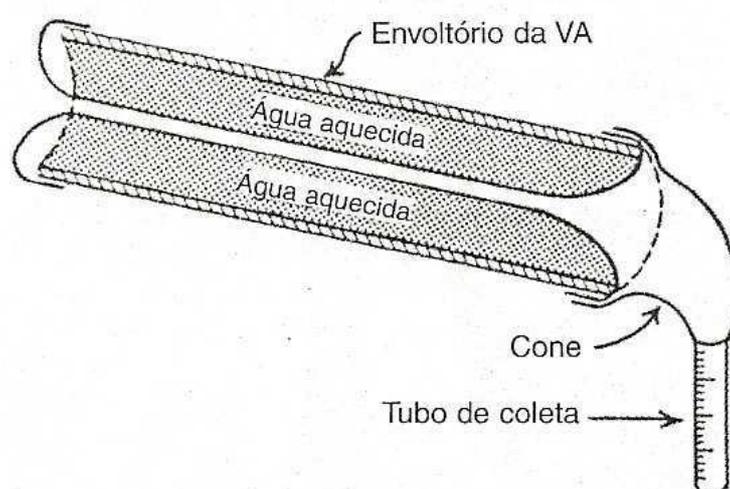


Figura 3. Estrutura da vagina artificial para pequenos ruminantes.

Fonte: Hafez, 2004.

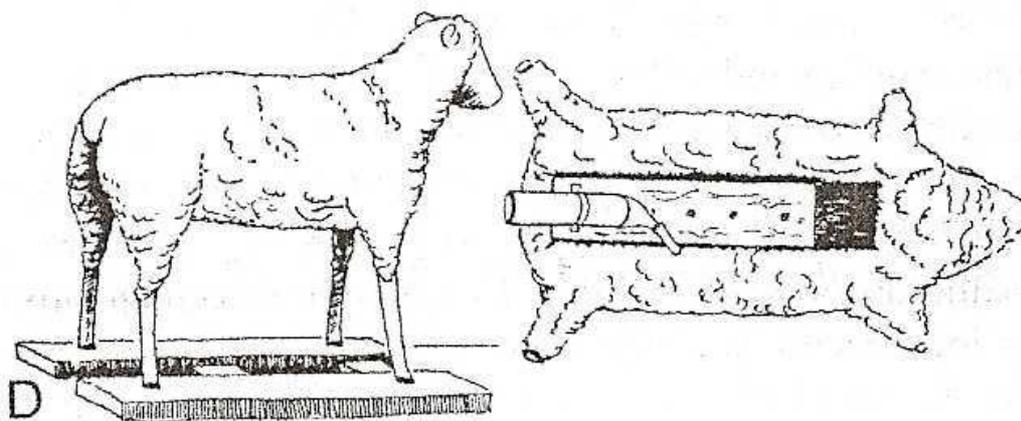


Figura 4. Manequim para ovinos.

Fonte: Hafez, 2004.



Figura 5. Coleta de sêmen com vagina artificial.

2.3 AVALIAÇÃO DO SÊMEN

Para que o espermatozóide seja considerado qualitativamente viável e potencialmente fértil é necessário que possua morfologia, atividade metabólica e membranas normais. A presença de membranas íntegras é pré-requisito para que os eventos relacionados ao processo de fertilização, como a capacitação espermática, penetração nos revestimentos do ovócito, ligação à zona pelúcida e fusão com o oolema possam ocorrer (YANAGIMACHI, 1994; RODRIGUEZ-MARTINEZ, *et al.* 1997).

A redução da fertilidade, associada à inseminação com sêmen congelado, vem sendo atribuída aos processos ocorridos durante a congelação do sêmen, ocasionando danos aos espermatozóides, os quais podem ser ultra-estruturais, físicos, bioquímicos e funcionais, e que levam as membranas espermáticas a apresentarem alteração da assimetria bi-lipídica (WATSON, 1995). Podendo-se ainda incluir a estes danos, a perda de motilidade, alterações na cromatina e na morfologia do espermatozóide, permeabilização e desestabilização das membranas e geração de espécies reativas de oxigênio (WATSON, 2000; CELEGHINI, *et al.* 2007).

O sêmen deve ser avaliado de acordo com as seguintes características macroscópicas:

Volume Ejaculado: Varia de 0,2 a 2,0 mL em bodes, em carneiros fica em torno de 0,5 a 3,0 mL. (GONÇALVES, *et al.* 2008). A determinação do volume do ejaculado é realizada no laboratório, através da leitura no copo coletor graduado, antes da colocação no banho-maria (BETINI, *et al.* 1998);

Cor: Nos bodes deve ser amarelada, desprezando-se o sêmen com coloração avermelhada ou com cor de chocolate, indicando presença de sangue. A análise da cor do sêmen é feita visualmente (BETINI, *et al.* 1998). Em carneiros poderá ser branco ou marfim. (GONÇALVES, *et al.* 2001).

pH: Determinado colocando-se uma gota de sêmen sobre uma fita de papel tornassol (BETINI, *et al.* 1998). O normal do pH é estar em torno de 7,0 (GONZALES, *et al.* 2002);

Aspecto: Variando de leitoso a cremoso, desprezando-se o sêmen aquoso ou turvo, pois é indicativo de pequeno número de espermatozóides (GONÇALVES, *et al.* 2001).

Também podem ser características microscópicas para análise do sêmen:

Turbilhonamento ou Movimento Massal: Movimento da massa de espermatozóides no plasma seminal. Assemelha-se a ondas do mar e pode receber notas de 0 (sem movimento) a 5 (movimentos muito fortes). Para ser considerado bom deve ser classificado com nota 3 no mínimo (GONZALES, *et al.* 2002). Para fazer a avaliação do turbilhonamento, deve-se colocar uma gota de sêmen recém colhido sobre uma lâmina a 37°C (BETINI, *et al.* 1998).

Concentração: Determinada no espectrofotômetro ou no microscópio. A concentração é definida como a quantidade de espermatozóides em cada milímetro de sêmen, onde o valor normal está em torno de 3 bilhões/mL (GONÇALVES *et al.* 2001).

Motilidade individual progressiva (MP): Movimento em flecha de cada espermatozóide (GONÇALVES, *et al.* 2001).

Vigor: Segundo BETINI, *et al.* (1998), esta avaliação é realizada a partir da lâmina preparada para motilidade progressiva e classificada numa escala de 0 a 5 pontos, onde os valores mais elevados indicam sêmen de melhor qualidade.

Morfologia espermática (ME): Indica a porção de espermatozóides patológicos (sem cauda, com cauda dupla, com dupla cabeça, etc.) dentro da população espermática, não devendo ultrapassar os 15% (GONÇALVES, *et al.* 2001).

Índices de sobrevivência: Segundo BETINI, *et al.* (1998), este é outro critério que faz parte da análise do sêmen; determinado em microscópio óptico de contraste de fase em 40x, a partir de esfregaço feito com mistura de uma gota de eosina vermelha a 3%, uma gota de nigrosina a 5% e uma gota de sêmen; homogeneizar a mistura por 30 segundos; colocar uma gota dessa mistura na lâmina, e preparar um esfregaço que após a secagem será levado no microscópio em 40x. Para determinar o valor desses índices, deve-se contar 100 espermatozóides entre corados e brancos, onde os brancos serão os sobreviventes, dividir as células brancas pelo total e multiplicá-las por 100.

2.4 FORMAS DE UTILIZAÇÃO DO SÊMEN

2.4.1 SÊMEN PURO OU DILUÍDO

Ambos puro ou diluído são eficazes quando utilizado imediatamente, o sêmen puro é utilizado no volume de 0,05 a 0,2 mL, pela via cervical, corresponde a uma concentração de 50 a 100 milhões de espermatozóides por dose, considerando um ejaculado de 3 milhões de espermatozóides por mL, nessa proporção é capaz de inseminar com cada mL de 10 a 20 fêmeas. (GONÇALVES, *et al.* 2008).

A vantagem dos diluentes é que eles possibilitam a nutrição das células espermáticas, prevenindo a mudança de pH, choque térmico e dependendo do volume adicionado é possível aumentar a dose aplicada nas fêmeas. A concentração ideal de sêmen caprino por inseminação cervical é de 200×10^6 espermatozoides por dose, em um volume de 0,25 ou 0,5, a maioria do ejaculado em uma proporção de 1:3 a 1:9. (GONÇALVES, *et al.* 2008).

Os diluentes podem ser sintéticos ou naturais. Os sintéticos são compostos por substâncias tampão como tris-hidroximetilaminometano (TRIS) ou citrato de sódio, bases energéticas glicose ou frutose e gema de ovo para evitar choque térmico. Nos caprinos deve-se reduzir a quantidade de gema, pois o plasma seminal apresenta enzimas que promovem a sua coagulação. (GONÇALVES, *et al.* 2008).

Os diluentes naturais são o leite desnatado, reconstituído, ou “longa vida”. Outra alternativa é a água-de-coco, uma solução ácida estéril, contendo sais, proteínas, açúcares, vitaminas, minerais, fatores de crescimento e gordura neutra, além de indutores da divisão celular e eletrólitos, a densidade e pH compatíveis com o plasma sanguíneo, fornecendo nutrientes para manter a sobrevivência e viabilidade dos gametas masculinos e femininos. (BLUME, 1994; MARQUES, 1982).

2.4.2 SÊMEN REFRIGERADO

O sêmen caprino pode ser conservado sob refrigeração a 4°C podendo ser utilizado em um curto espaço de tempo, tendo sua viabilidade máxima de 48hs. Segundo GONÇALVES, *et al.* (2001) e MEDEIROS, *et al.* (1994), o sêmen dos ovinos sob temperatura de 5°C, pode ser usado até 24hs mediante aplicação cervical. (GONÇALVES, *et al.* 2008). Após a diluição e refrigeração ocorrem danos provocados nas células

espermáticas que reduzem a motilidade e rompem à integridade das membranas dos espermatozóides em ovinos. (MILCZEWSKI, *et al.* 2000). Quando se aumenta a temperatura, o tempo de vida do sêmen é reduzido, a conservação até 15°C possibilita a utilização por um período de 6 às 12hs. É importante ressaltar que após atingir a temperatura de 5°C, devem-se evitar variações de temperatura, levando em consideração que temperaturas superiores não são suficientes para inibirem os espermatozóides e as próximas de zero são letais. (GONÇALVES, *et al.* 2008). Os diluentes usados são os naturais e os sintéticos, é importante o uso de antibiótico de amplo espectro.

2.4.3 SÊMEN CONGELADO

A outra modalidade é o uso do sêmen congelado, que permite uma estocagem a temperatura de -196°C por tempo indeterminado, ultrapassando certamente décadas. Essa grande vantagem é em parte contrastada pela necessidade do emprego de mão de obra, métodos e equipamentos especiais para sua realização. Para a obtenção de índices superiores a 70% de gestação é necessário que o sêmen após a descongelação seja colocado diretamente no útero da fêmea, empregando-se para isto a técnica de laparoscopia. As inseminações feitas com a deposição do material fecundante na porção externa da cérvix uterina, só atingem índices satisfatórios quando se emprega sêmen recém-colhido ou resfriado por até 48 horas. (BICUDO, 1998).

Segundo Ribeiro (1997), com o uso da I.A. com sêmen congelado, o número de fêmeas por reprodutor é superior sendo difícil de ser determinado, onde uma única ejaculação pode produzir de 10 até 40 doses de sêmen dependendo da quantidade do mesmo e quantidade de espermatozóides utilizados por dose.

Para Gonçalves, *et al.* (2001) os diluentes mais usados para sêmen congelado são constituídos a base de: Leite desnatado (20g); glicose (388mg); água bidestilada (200ml); penicilina G sódica (200.000 UI); sulfato de estreptomicina (10mg).

Mies Filho (1987) afirma que a gema de ovo por ser rica em fosfolipídeos, protegendo os espermatozóides do choque térmico em temperatura abaixo de 0°C; portanto, em caso de congelação pode-se utilizar o glicerol, pois funciona como crioprotetor.

O processo mais usado preconiza um único diluidor e ocorre considerando as seguintes etapas: Diluição a 30°C, conforme a concentração espermática do ejaculado, nas proporções de 1:1, 1:2, 1:3 ou 1:4; os ejaculados já diluídos são resfriados até 5°C, com um refrigerador doméstico pelo período de 1,5 às 2hs; para maior segurança e estabilidade, os tubos com sêmen diluído deverão ser submersos em recipientes com água; no final desse período, o sêmen é congelado em blocos de gelo seco na temperatura de -79°C. O procedimento apropriado para congelar consiste em retirar esses recipientes com água a 5°C e mantê-los nessa temperatura fora do refrigerador, adicionando blocos de gelo. Um cuidado a ser tomado, as pipetas devem ser lavadas e resfriadas em diluentes na mesma temperatura de resfriamento. (GONÇALVES, *et al.* 2008). Em caprinos, a preservação de longa duração do sêmen pode ser obtida com diluentes que não precisem da retirada do plasma seminal. (CORTEEL, 1992).

2.5 TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO EM PEQUENOS RUMINANTES.

Nos pequenos ruminantes existem quatro métodos de inseminação artificial: vaginal (VAI), cervical (CAI), transcervical (TAI) e laparoscópico (LAI). (HAFEZ, 2004).

As inseminações artificiais devem ser realizadas em local limpo, tranquilo e seguro. O meio ambiente deve ser familiar às cabras e abrigado do sol, vento e chuva de forma a minimizar situações de estresse. A luz intensa é desaconselhável. Todo o material deve ser colocado em lugar inacessível aos animais. (SIMÕES, *et al.* 2008). O local onde será realizado a inseminação deve estar em uma temperatura entre 20 a 25°C e livre de correntes de ar. (GIBBONS; CUETO 2004).

2.5.1 MÉTODO VAGINAL

A inseminação artificial vaginal é uma técnica simples e consiste na deposição do sêmen na vagina da fêmea o mais profundo possível, sem a preocupação de localizar a cérvix. Requer pouco treinamento, utiliza-se apenas sêmen fresco ou fresco diluído. A fêmea permanece em estação e a pipeta é inserida aproximadamente 13 centímetros. Utilizando 200×10^6 a 400×10^6 espermatozoides/mL, o índice de concepção esperado é de 40% a 65% (BRUCKRELL, *et al.* 1991). Raramente utilizada na Austrália, não existe relato de uso no Brasil. Emprega-se uma pipeta acoplada a uma seringa para promover a aspiração do sêmen e dispensa espécuro. Excepcionalmente, poderá ser utilizada em borregas com estreitamento vaginal. (GONÇALVES, *et al.* 2008).

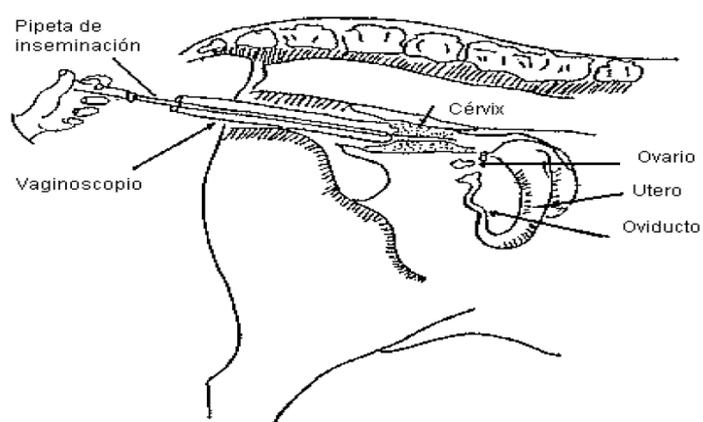


Figura 6. Inseminação artificial pelo método vaginal.



Figura 7. Inseminação artificial pelo método vaginal.

2.5.2 MÉTODO CERVICAL

Nesse método utiliza sêmen fresco ou diluído, sendo a via mais empregado em ovinos e caprinos. (GONÇALVES, *et al.* 2008). Os animais são colocados de cabeça inclinada para baixo, com os membros posteriores levantados. (GIBBONS, *et al.* 2004). Além da imobilização, o método de contenção tem como objetivo colocar e manter o animal em boa posição para a inseminação, isto é, com os quartos posteriores levantados de modo a permitir visualizar corretamente a cérvix. (SIMÕES, *et al.* 2008). Alguns inseminadores dão preferência ao tronco de contenção individual ele é composto por uma base, elevada em cerca de 25 centímetros do piso, propiciando maior conforto ao inseminador, permitir que ele trabalhe sentado. (ASSUMPCÃO, 2007).

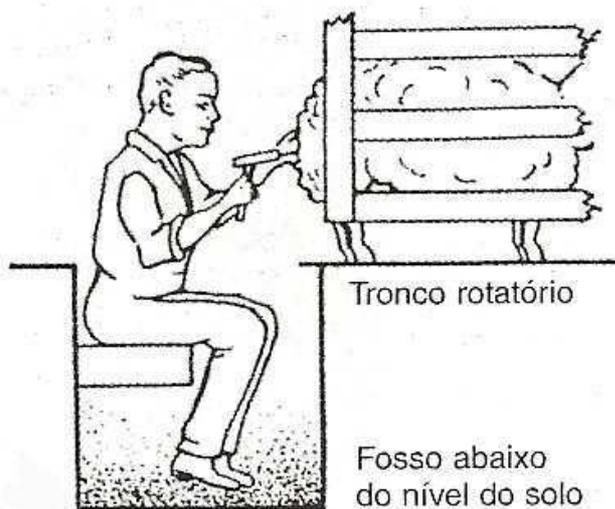


Figura 8. Tronco de contenção.

Fonte: Hafez, 2004.

Utiliza-se um espécuro para visualização da cérvix, inserindo-o de 10 a 14 centímetros. É uma técnica rápida de fácil aplicação, com custos relativamente baixos. (FERRA, 2004). Usa espécuro vaginal dotado de iluminação e aplicador ou pipeta específica para deposição através do orifício externo em profundidade variável, dependendo da morfologia cervical, da habilidade do inseminador e do equipamento utilizado. (GONÇALVES, *et al.* 2008). Pode-se usar vaselina para facilitar a entrada do espécuro na vagina, porém em alguns animais o muco contido no trato genital já é necessário para facilitar a entrada.

Nesse método os resultados são bastante satisfatórios, semelhantes ou superiores a monta natural. No caso específico do sêmen congelado, os resultados dependem do número de espermatozoides viáveis que conseguem atingir o local da fecundação. Os resultados de prenhez obtidos em ovinos são muito variáveis e aquém do desejável, oscilam entre 0 e 40%. Alguns resultados acima desses são podem ser obtidos esporadicamente. (SALAMON; MAXWELL, 1995).

2.5.2.1 VIA TRANSCERVICAL

A deposição uterina transcervical é um procedimento cujos índices de concepção são pouco melhores em relação aos obtidos pela simples deposição cervical. (GONÇALVES, *et al.* 2008). Nesse método faz-se necessário seguir uma seqüência de procedimentos; visualizar com a introdução do espécuro vaginal o óstio da cérvix, fazer o pinçamento da cérvix com auxílio da pinça de Allys de 25 centímetros de comprimento, retirar o espécuro e proceder à tração da cérvix, introduzir o aplicador expensor, retirar o mandril guia, introduzindo a paleta de sêmen com auxílio do êmbolo, aplicar a quantidade

de sêmen contido na paleta, retirar o aplicador expensor, a pinça de Allys e promover uma massagem clitorreânea. (ASSUMPÇÃO, 2007).



Figura 9. Via Transcervical.

Nos ovinos esse método se torna um pouco mais complicado que nos caprinos. Gusmão, *et al.* (2007) cita que a cérvix é uma estrutura de difícil acesso, nas fêmeas ovinas, devido às características anatômicas peculiares. É semelhante a um esfíncter, que se projeta caudalmente na vagina, de constituição fibrosa composta predominantemente por tecido conjuntivo, com pequena quantidade de tecido muscular liso, caracterizada por uma parede espessa e por um lúmen constricto com várias proeminências, formando os anéis cervicais que se adaptam um ao outro ocluindo a cérvix com segurança. (HAFEZ, 2004). A cérvix permanece firmemente fechada, exceto durante o cio, quando se relaxa

levemente, permitindo a entrada dos espermatozoides no útero. (EVANS; MAXWELL, 1990). (HAFEZ, 2004) durante o trabalho de parto para permitir a saída do feto (HAFEZ, 2004). O sucesso depende das variações morfológicas do canal cervical em razão de fatores raciais individuais, determinando maior ou menor possibilidade de acesso uterino. (GONÇALVES, *et al.* 2008). Nos ovinos há grande dificuldade para se transpor o obstáculo do canal cervical e realizar a I.A. pelo método transcervical, uma vez que é longo, sinuoso e de diâmetro reduzido nessa espécie (HALBERT, *et al.* 1990). Nos estudos realizados por KERSHAW, *et al.* (2005), foi feita a classificação da cérvix, segundo a exposição externa da cérvix em: bico de pato, fenda, rosa, papila e aba. Os anéis cervicais foram contados e o grau de dificuldade na passagem desses anéis foi classificado em 1: cérvix com completo alinhamento dos anéis em direção a abertura do lúmen sem interdigitações; grau 2: Cérvix com mistura de anéis alinhados e desalinhados com uma interdigitação obstruindo o centro do lúmen e grau 3: cérvix predominantemente incompleta com interdigitações e anéis não alinhados. Os animais com grande dificuldade da passagem da bainha são descartados da inseminação e conduzidos para monta natural.

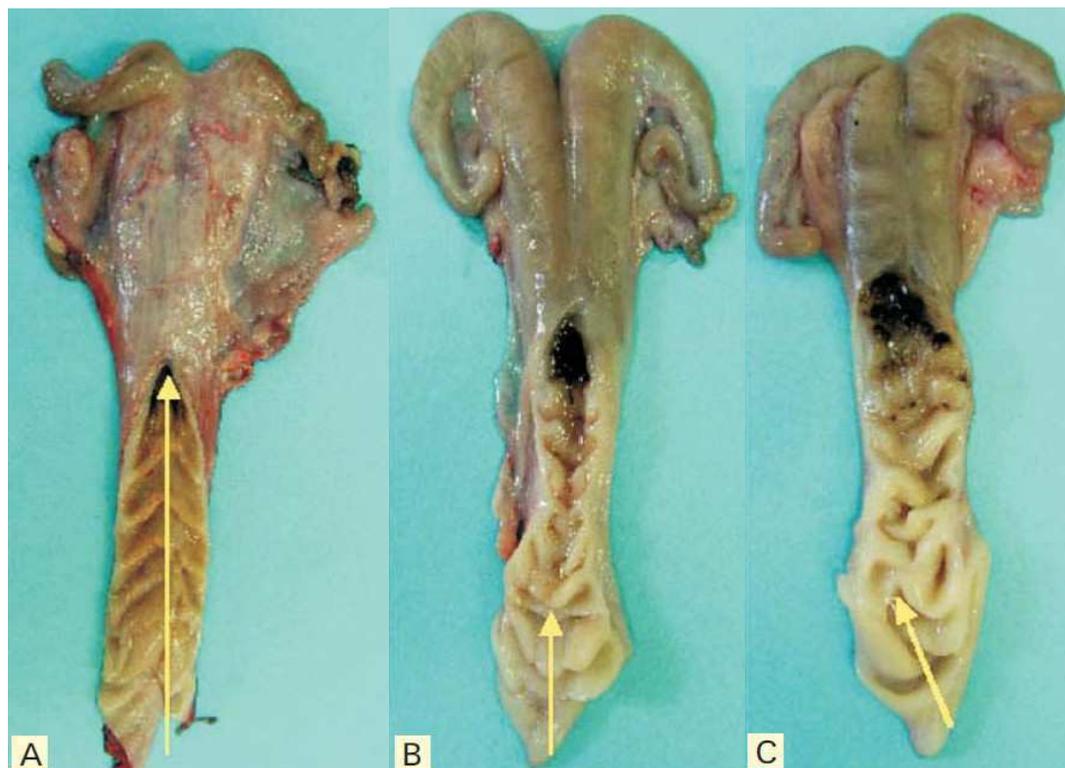


Figura 10. Classificação quanto à direção e a máxima profundidade de penetração em inseminação artificial em ovelhas (a) grau 1, (b) grau 2 e (c) grau 3.

Fonte: Kershaw, *et al.* (2005).

O sucesso dessa técnica está diretamente relacionado com a profundidade alcançada pelo cateterismo cervical, especialmente em raças com aptidão para lã (Merino, Ideal e Corriedale). (GONÇALVES, *et al.* 2008). Segundo Mies (1987) com a associação de prostaglandina E, observou-se um sucesso na penetração, no entanto, essa alternativa não era viável pela baixa fertilidade observada.

2.5.3 MÉTODO LAPAROSCÓPIO OU INTRA-UTERINIO

Esse método consiste na deposição uterina com auxílio de laparoscópio é um procedimento simples, porém invasivo, que possibilita a deposição direta do sêmen nos cornos uterinos com ajuda de um laparoscópio, utilizando concentrações espermáticas

significativamente menores em relação às requeridas pela via cervical. A fêmea é colocada em uma cama específica com a região da linha alba próxima ao úbere tricotomizada e realizada assepsia. É conveniente jejum hídrico-alimentar vinte e quatro horas antes do procedimento, reduzindo assim os conteúdos do rúmen e bexiga. A cama é levantada para uma angulação de aproximadamente 40°. A parede abdominal é penetrada com dois trocáteres para a colocação da cânula e do laparoscópio na cavidade abdominal. O endoscópio é um aparelho de fibra ótica que possibilita a visão do trato reprodutivo das fêmeas facilitando o procedimento. A cavidade abdominal é inflada com uma pequena quantidade de CO₂ para facilitar a visualização do útero e dos demais órgãos da cavidade. Uma pinça manipuladora é utilizada para posicionar o útero para a inseminação. Após posicionamento do aplicador para a inseminação, o sêmen é depositado. Quanto menor a manipulação uterina maior a taxa de concepção. O depósito do sêmen é realizado diretamente no lúmen de ambos cornos uterinos. O tempo do procedimento dura 2 a 5 minutos, dependendo da experiência do técnico. A técnica de IA. por laparoscopia é responsável pela expansão do uso do sêmen congelado nos ovinos. (CARNEIRO, *et al.* 2007).

Um fator positivo nessa técnica é visualização dos ovários, dessa forma podendo observar os folicos para uma maior segurança na fertilização. Várias publicações relatam resultados na faixa de 50 a 70% de penhez, ou maior amplitude, considerando as diferentes condições nutricionais, estação do ano, localização geográfica, habilidade da equipe, qualidade do sêmen, protocolo hormonal para indução ou sincronização, entre outras. (GONÇALVES, *et al.* 2008).



Figura 11. Cadeira de contenção para inseminação por laparoscópica.

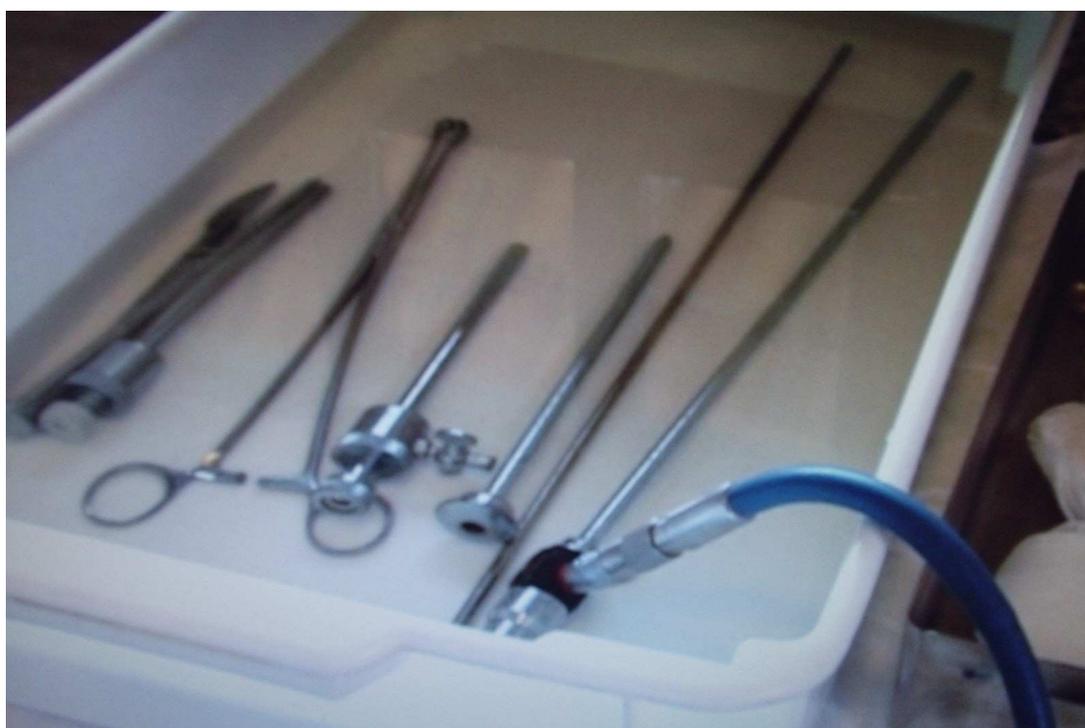


Figura 12. Materiais utilizados, no método de inseminação artificial por laparoscopia.



Figura 13. Método de inseminação artificial por laparoscopia ou intra-uterino.

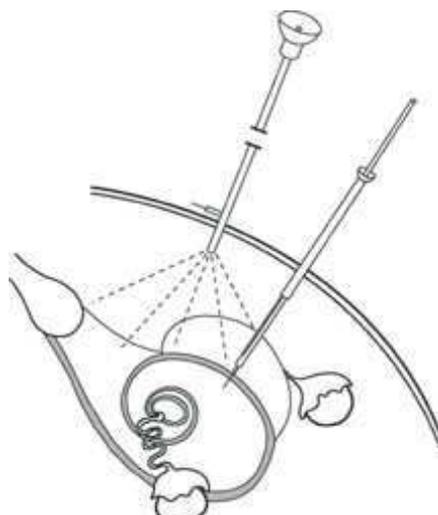


Figura 14. Esquema do método laparoscópico.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inseminação artificial dentre as biotécnicas atuais é a mais acessível, para os pequenos e médios produtores, portanto se faz necessário a difusão desta, pois só dessa forma haverá disseminação de material genético que possibilite o melhoramento animal, e conseqüentemente um melhoramento nos rebanhos, aumentando a produção de leite e carne, já que os pequenos ruminantes se encontram em plena expansão, pois se falam muito em aumentar o rebanho caprino e ovino, principalmente em regiões pobres como o nordeste brasileiro.

Uma alternativa interessante para aumentar o efetivo de animais, seria a popularização dessa biotécnica, pois ela ainda está restrita aos rebanhos de elite. Outro fator importante que se faz necessário para o sucesso da I.A. é o melhoramento do manejo nutricional e sanitário dos rebanhos caprinos e ovinos, somente dessa forma haverá resultados significativos, portanto não adianta fazer altos investimentos sem priorizar esses dois itens, pois ambos funcionam de maneira integrada.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSUMPCÃO, A.C. Inseminação artificial transcervical em ovinos Santa Inês. In: Assist 2007, I simpósio brasileiro de reprodução assistida em caprinos e ovinos. Gravatá **Inseminação artificial transcervical em ovinos Santa Inês**. Gravatá. 2007. p. 1-14.

AZEVEDO, C.H. **Método e técnicas para viabilizar a inseminação artificial transcervical com sêmen congelado em ovinos**. 2002. 24f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

BICUDO, S.D.; *et al.* **Aspectos peculiares da inseminação artificial em ovinos**. – Texto apostilado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, 2007.

BREDA, J.C. *et al.* Dados de alguns parâmetros anatômicos do aparelho reprodutivo de ovelhas da raça *Hampshire down-ile de france*. Curitiba, **Rev. Acad.**, v. 5, n. 3, p. 237-242, jul./set. 2007.

BLUME, H.; MARQUES JR.,A.P.V. Avaliação da água-de-coco no cultivo e criopreservação de embriões murídeos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**,v.18, p.97-104,1994.

BUCKELL, B.C.; BUSCHBECK,C.; GARTLEY,C.J.et al. A breendig trial using a transcervical technique for artificial in sheep. **In: International congress on animal reproduction**, 1992. Netherlands. Proceedings of International Congress on Animal Reproduction, 1992,p. 1531-1533.

CORTEEL, J.M. Involvement of seminal plasma in goat sperm preservation. **In: II International conference on goats**, 1992, New Delhi. Proceedings of II international conference on Goats, 1992, p.290-297.

DA CRUZ JÚNIOR, C.A. **Caracterização anatômica e histológica da cérvix de ovelhas da raça Santa Inês**. 2006. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

D'ATHAYDE NETO H.P., *et al.* **Influência da idade na inseminação artificial transcervical em ovelhas nativas de Mato Grosso do Sul**. Corumbá, 5p. Trabalho não publicado.

DA CRUZ, Jurandir Ferreira; FERRAZ, Rita de Cássia Nunes. **Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos**. Barreiras, 7p. Trabalho não publicado.

DE OLIVEIRAS PAULA, N.R. *et al.* Embriões caprinos produzidos *in vivo* ou *in vitro*: técnicas, problemas e perspectivas. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.32, n.1, p.21-35, jan./mar. 2008.

EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. Insemination. In: EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. **Inseminación Artificial de Ovejas y Cabras**. 4. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 1990. p.143-165.

FERNANDES, Mónica Fernandes. **Antecipação da estação reprodutiva em ovelhas da raça churra galega bragançana. Inseminação artificial**. 2008. 29f.. Dissertação

(Mestrado em Tecnologias Animais) – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2008.

FERRAR, J.C.; SERENO, J.R.B. **Inseminação artificial em ovinos**. Embrapa cerrado, Planaltina, v.1,n.1, p. 26, maio. 2006.

FERRUGEM MORAES, J.C. **O emprego da inseminação artificial nas ovelhas**. Manual técnico. Texto apostilado, Bagé, 2002. 6p.

CARNEIRO, G. F. Biotecnologia da reprodução na espécie caprina: perspectivas atuais, **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.268-273, abr./jun. 2007.

CARNEIRO, G. F. **Biotécnicas da reprodução assistida em pequenos ruminantes**. In: Trabalho apresentado no 3º Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte - 3º SINCORTE, João Pessoa, 2007, 6p.

CARNEIRO, Gustavo Ferrer, et al. **Utilização prática de sêmen congelado: Inseminação artificial em pequenos ruminantes**. 2007. 14 f.. Carotá Genética, Gravata, 2007.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ,B. **Reprodução animal**. Inseminação artificial. 7ª.ed. Barueri. 2004, p. 381 – 393.

HALBERT, G. W.; DOBSON, H.; WALTON, J. S. The structure of the cervical canal of ewe. **Theriogenology**, v.33, n.5, p. 977-992, 1990.

LEÃO, M.K. **Técnicas de inseminação artificial**. Botucatu, 2003. Monografia (Conclusão de Curso), 34p.

LOPES JÚNIOR, E.S. **Colheita, criopreservação e transferência de embriões ovinos da raça Morada Nova (variedade branca)**. 2005.110f.. Dissertação (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2005.

KERSHAW, C.M., *et al.* The anatomy of the sheep cervix and its influence of the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. **Theriogenology**, New York, v.64, p. 1225-1235, 2005.

GIBBONS, Alejandro; CUETO, Marcela; WOLFF, Marina. **Inseminación artificial em la espécie caprina**. 2002. Bariloche, 2002.

GIBBONS, Alejandro; CUETO, Marcela; **Manual de inseminación artificial em la especie ovina**. 2002. Bariloche, 2002.

GONÇALVES, Paulo Bayard Dias, *et al.* **Biotécnicas aplicada à reprodução animal: Inseminação artificial em pequenos ruminantes**. 2ª. ed. São Paulo: Roca, 2008. p 83 – 101.

GONZALES, Iara M.; SOARES, Adriana T.; GOMES, Maria das Graças G.; SOUSA, Wandrick H. de. **Reprodução assistida em caprinos**. Paraíba, p. 11-42. Set. 2002.

GUSMÃO, A.L. *et al.* Colheita transcervical de embriões ovinos da raça santa inês no semi-árido nordestino, **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.8, n.1, p. 01-10, 2007.

MACHADO, V.P. *et al.* Fertilidade após a inseminação artificial intra-cervical ou laparoscópica intra-uterina de ovelhas utilizando diluidores à base de água de coco, **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, São Paulo, v. 43, suplemento, p. 43-49, dez, 2006.

MARQUES, A.L.V. **A Água-de-coco**. Fortaleza: Sociedade Cearense de Ginecologia e Obstetrícia, 1982. (SOCEGO. Informativo, n.92).

MEDEIROS, Luís P, *et al.* **Caprinos: Princípios básicos para sua exploração**. Teresina: Embrapa-CPAMN/SPI, 1994, p. 63-78.

MIES FILHO, Antônio. **Reprodução dos animais e inseminação artificial**. 3ª. ed. Porto Alegre: Sulina, 1975, p.337 - 345.

MIES FILHO, Antônio. **Inseminação artificial**. 6a. ed. Porto Alegre: Sulina, 1987, p. 334.

MILCZEWSKI, V.; KOZICKI, L.E.; NEVES, J.P. Viabilidade do sêmen ovino refrigerado em diferentes diluentes. **Archives of veterinary science**, Curitiba, v.5, p. 29-33, 2000.

MONACO, F. **Inseminação artificial em ovinos (*Ovis aries*)**. Monografia apresentada a UNIME – União Metropolitana de Educação e Cultura, 2007. 74p.

MORAIS, O.R. **O melhoramento genético dos ovinos no Brasil: Situação atual e perspectivas para o futuro**. 3, SIMPOÓSIO NACIONAL DE MELHORAMENTO ANIMAL. Brasília, 2003, 7p.

MUNIZ, A.P. **Inseminação artificial em caprinos**. São Paulo, 2003. Monografia (Conclusão de Curso), 45p.

NUNES, J.F.; SALGUEIRO, C.C.M. Utilização da água-de-coco como diluente do sêmen de caprinos e ovinos. **Rev. Cient. Prod. Anim.**, v.1, n.1, p.17-46, 1999.

SALOMON,S.; MAXWELL,W.M.C. Frozen storage of ram semen I Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.37,p.1-36, 1995.

SALOMON, S.; MAXWELL, W.M.C. Frazen storage of ram sêmen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. **Animal reproduction science**,v.37,p.185-249,1995.

SALLES, H.O. **Inseminação artificial por via transcervical em ovinos**. Disponível em: <<http://www.isophos.com.br/html>> 21 março de 2009.

SIQUEIRA, A.P. **Inseminação artificial em caprinos com sêmen resfriado**. 2006.106f.. Dissertação (Mestrado em Reprodução animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

SOUZA, M.I.L.; *et al.* Inseminação transcervical com sêmen congelado em ovinos. **Ciência Rural** (Santa Maria), v.24, n. 3, p 597-602, 199944b.

STEIGLEDER, L.F. **Inseminação artificial por laparoscopia em ovinos utilizando espermatozoides descongelados e capacitados *in vitro***. 2007. 48f.. Dissertação (Mestrado em Reprodução animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

TRALDI, A. de S. **Biotecnicas aplicadas em reprodução de pequenos ruminantes**. FEINCO, 3, FEINCO, São Paulo, 2006, 11p.

TRALDI, A. de S. **Tópicos em reprodução e I.A. em caprinos** – Manual técnico. Texto apostilado, 1994.

VIANA, Beatriz Calderari. **Inseminação artificial em éguas com sêmen congelado, “*in natura*” e diluído**. 2000. 64f.. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

WATSON, P.F.; Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post thawing function. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 7, p. 871-891, 1995.

WATSON, P. F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen, **Animal Reproduction Science**, v. 60/61, p. 481-492, 2000.

YANAGIMACHI, R. Mammalian fertilization. *In*: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. **The Physiology of Reproduction**. New York: Raven Press, 1994, p.189-317.