

# Inseminação artificial de ovelhas da raça Santa Inês com sêmen diluído em água de coco *in natura* e em pó\*

## Artificial insemination of Santa Inês ewes with semen extended in coconut water *in natura* and in powder

Emmanuelle Lima de Figueirêdo,\* José Ferreira Nunes,\* Marina Albuquerque Cordeiro,\* Priscila Teixeira de Souza,\* Renato Nogueira Diógenes Filho,\* Virgílio Emanuel Vieira,\* Artur Henrique Soares da Silva Filho,\* Fernando Lucas Torres de Mesquita,\* Cristiane Clemente de Mello Salgueiro,\* José Valmir Feitosa\*\*

### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a fertilidade de ovelhas após inseminação (IA) com sêmen diluído em água de coco *in natura* (ACIN) e em pó (ACP-102) e resfriado a 4°C por 24 horas, durante a época chuvosa e seca no estado do Ceará. As ovelhas (n=208) foram previamente submetidas a tratamento hormonal com MAP (50mg) e e.C.G. (200 UI). As ovelhas foram distribuídas em quatro grupos experimentais para a inseminação artificial: grupo 1 (época chuvosa + ACIN = 47); grupo 2 (época chuvosa + ACP-102 = 47); grupo 3 (época seca + ACIN = 60); e grupo 4 (época seca + ACP-102 = 54). As IA foram realizadas entre 50 e 55 horas após a retirada das esponjas com sêmen resfriado por 24 horas. Não foi observada diferença significativa (P>0,05) entre os diluentes testados (ACIN=74,77% vs. ACP-102=72,28%). Com relação à época da IA, verificou-se uma maior taxa de prenhez durante a época seca (81,58%) do que na chuvosa (63,82%) (P<0,05). Conclui-se que ambos diluentes à base de água de coco apresentam boa capacidade conservadora, pois mantêm o sêmen ovino viável e com níveis satisfatórios de fertilidade mesmo após 24 horas de resfriamento a 4°C. Independentemente do diluente utilizado, a época da IA no estado do Ceará pode influenciar a taxa de prenhez em ovelhas.

**Palavras-chave:** inseminação artificial, ovelhas, ACIN, ACP-102, resfriamento.

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the fertility of ewes after artificial insemination (AI) with semen extended in coconut water *in natura* (INCW) and in powder (PCW-102) and cooled at 4°C for 24h, during the rainy and dry period in the Ceará State. The ewes (n=208) were previously submitted to a hormonal treatment with MPA (50mg) and e.C.G. (200 IU). The ewes were distributed into four experimental groups for AI: group 1 (rainy period + INCW = 47); group 2 (rainy period + PCW-102 = 47); group 3 (dry period + INCW = 60); and group 4 (dry period + PCW-102 = 54). The AI were performed between 50 and 55h after sponge removal with semen cooled for 24h. It wasn't observed statistical difference (P>0.05) between the extenders tested (INCW=74.77% vs. PCW-102=72.28%). Regarding AI period, it was verified higher pregnancy rate (81.58%) during the dry period in comparison with the rainy period (63.82%) (P<0.05). In conclusion, both extenders based on coconut water present good preservative capacity, since the ram semen is maintained viable and with satisfactory values of fertility after 24h of cooling at 4°C. Independently of extender used, the AI rain period in Ceará State can influence the pregnancy rate in ewes.

**Keywords:** artificial insemination, ewes, INCW, PCW-102, cooling.

### Introdução

A inseminação artificial é uma técnica que permite a aceleração dos benefícios advindos do melhoramento animal, já que o patrimônio genético dos melhores reprodutores pode ser utilizado de forma mais eficiente, podendo ser difundido para um maior número de fêmeas (Aguinski, 1993).

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 espermiática desta biotécnica (Carneiro, 2002). Muitos estudos têm sido realizados na tentativa de melhorar a capacidade fertilizante do sêmen ovino congelado e resfriado, porém apresentam ainda resultados insatisfatórios *in vivo* (Milczewski et al., 2000a).

Segundo Roca et al. (2000), o uso efetivo de sêmen resfriado para inseminação artificial depende da habilidade do diluente em promover um ambiente apropriado para o espermatozoide

\*Este estudo faz parte da tese de Emmanuelle Lima de Figueiredo junto ao PPGCV/UECE.

\*\*Universidade Estadual do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Av Paranjana, 1700, Campus do Itaperi, CEP: 60740-000, Fortaleza, CE, Tel (85) 3226.3240, Fax: 3101-9840, lukafig@yahoo.com, ferreiranunes@hotmail.com, marinaa.cordeiro@bol.com.br, prtex17@gmail.com, renatinnn@bol.com.br, vevieira@yahoo.com, tufilho@bol.com.br, fltm@ig.com.br, crismello76@hotmail.com.

\*\*\*Departamento de Zootecnia – Universidade Federal do Ceará, UFC.

durante sua conservação. Independentemente do diluente utilizado para o sêmen resfriado, o tempo de utilização é limitado a aproximadamente 10 horas e, após 24 horas de armazenamento, a fertilidade diminui significativamente com o emprego da inseminação cervical (Maxwell e Salamon, 1993). Como agravante, na região semi-árida do Nordeste do Brasil, são determinadas duas épocas, seca e chuvosa, que interferem na disponibilidade de alimentos, na temperatura e influenciam, conseqüentemente, a atividade sexual do macho caprino e ovino (Silva e Nunes, 1984).

A viabilidade e um maior tempo de sobrevivência dos espermatozoides da espécie ovina requerem prioridade na busca de diluentes que permitam uma maior proteção das células espermáticas. Neste contexto, encontra-se a água de coco que tem demonstrado exercer ação benéfica sobre os espermatozoides de vários mamíferos domésticos. Com o intuito de simplificar a utilização da água de coco como diluente para sêmen caprino, Salgueiro et al. (2002) a padronizaram na forma de pó (ACP-102).

Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar a fertilidade de ovelhas após inseminação com sêmen diluído em água de coco *in natura* e em pó e resfriado a 4°C por 24 horas, durante a época chuvosa e seca no estado do Ceará.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido em propriedade particular no município de Boa Viagem-CE, localizado na microrregião do sertão de Quixeramobim, possuindo as coordenadas geográficas: 05°13'18,6" de latitude Sul e 39°48'19,4" de longitude Oeste.

Foram utilizadas 94 ovelhas mestiças da raça Santa Inês na época chuvosa e 114 na época seca, com idade média de três anos e submetidas a manejo semi-intensivo. Estas fêmeas foram previamente submetidas a tratamento hormonal, por meio da colocação de esponjas intravaginais impregnadas com 50mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) (Promone E®, Pfizer), que permaneceram durante 14 dias na porção cranial da vagina. No dia da retirada das esponjas foram administradas, por via intramuscular, 200 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) (Novormon®, Tecnopec).

As ovelhas foram distribuídas em quatro grupos experimentais de acordo com a época do ano e o tipo de diluente seminal utilizado para a inseminação artificial: grupo 1 (época chuvosa + ACIN; n = 47); grupo 2 (época chuvosa + ACP-102; n = 47); grupo 3 (época seca + ACIN; n = 60); e grupo 4 (época seca + ACP-102; n = 54).

Em cada época estudada, o sêmen de dois carneiros da raça Santa Inês, previamente selecionados para as inseminações, foi colhido e submetido à avaliação do volume (mL), turbilhonamento (escore 0 a 5) e concentração espermática ( $\times 10^9$  spz/mL). Após as avaliações, foi realizado um *pool* e em seguida divididos em duas alíquotas, diluídos em água de coco *in natura* (50 mL de ACIN + 50 mL de citrato de sódio a 2,5%) e em pó (ACP-102 + 100 mL de água destilada) e finalmente resfriados a 4°C por 24 horas.

O sêmen previamente resfriado foi transportado ao local da inseminação em recipiente térmico, sendo envasado em palhetas de 0,50 mL, contendo uma concentração de 200

milhões de espermatozoides por dose, somente no momento das inseminações (50 e 55 horas após a retirada das esponjas). Todas as ovelhas foram inseminadas por via cervical, independentemente do aparecimento do estro.

Para o diagnóstico de gestação, foi utilizado aparelho de ultrassom da marca Pie Medical LC Vet 100 com transdutor linear de 6-8 MHZ por via transretal, 60 dias após as inseminações.

A taxa de fertilidade foi comparada entre as épocas (chuvosa e seca) e entre os diluentes (ACIN e ACP-102) e analisadas através do teste do Qui-quadrado, estimando-se a média e desvio-padrão com nível de significância de 5% de probabilidade.

## Resultados e discussão

Não foi observada diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os diluentes testados (ACIN=74,77% vs. ACP-102=72,28%).

As taxas de prenhez de ovelhas inseminadas com sêmen diluído em ACIN ou ACP-102 e resfriado a 4°C por 24 horas durante as épocas chuvosa e seca são apresentadas na Tabela 1. Durante a época chuvosa a maior taxa de prenhez foi observada nas ovelhas inseminadas com o diluente ACP-102, enquanto na época seca, o melhor resultado foi obtido com o diluente ACIN ( $P>0,05$ ).

**Tabela 1:** Taxas de prenhez de ovelhas inseminadas com sêmen diluído em ACIN e ACP-102 e resfriado a 4°C por 24 horas durante a época chuvosa e seca

	Época chuvosa	Época seca	Total
ACIN	61,70% (29/47)	85,00% (51/60)	74,77% (80/107)
ACP-102	65,96% (31/47)	77,78% (42/54)	72,28% (73/101)
Total	63,82% (06/94) <sup>b</sup>	81,58% (93/114) <sup>a</sup>	73,56% (153/208)

( ) n° ovelhas prenhez/n° ovelhas inseminadas; letras diferentes na mesma linha ( $P<0,05$ ).

Segundo Maxwell e Salamon (1993), os vários diluentes utilizados para a conservação do sêmen ovino resfriado a 4° ou 15°C não permitem um armazenamento prolongado, sendo a sua utilização limitada a 8 horas para obtenção de boas taxas de fertilidade. Após 12-24 horas de armazenamento, o poder fecundante do sêmen diminui (30% ou mais) e, conseqüentemente, a fertilidade após a inseminação artificial.

No presente estudo, os resultados de prenhez para os dois diluentes testados, independentemente da época, foram bastante satisfatórios, uma vez que as inseminações foram realizadas por via cervical e com sêmen resfriado por 24 horas. Estes valores foram semelhantes aos obtidos por via intra-uterina com sêmen ovino resfriado a 5°C por 8 a 10 horas, em estudo realizado por Milczewski et al. (2000b).

A sincronização do estro implica o tratamento hormonal em ovelhas e isto pode ter um efeito negativo sobre a fertilidade (Anel et al., 2005), porém, no presente estudo, as ovelhas que foram sincronizadas hormonalmente obtiveram taxas de prenhez variando entre 61,70% e 85%. Estes resultados foram próximos aos verificados por Donovan et al. (2004), que não observaram diferença significativa em taxas de prenhez entre ovelhas inseminadas com sêmen fresco durante o estro natural (82%) e àquelas submetidas à sincronização (70%).

Sousa (2002) utilizou dose inseminante semelhante à utilizada no presente estudo, em ovelhas com estro sincronizado e inseminações artificiais por via cervical. Porém, obteve médias de prenhez (41,9% com sêmen fresco e 21,5% com sêmen resfriado) inferiores às observadas neste estudo.

Com relação à época da inseminação artificial, verificou-se uma maior taxa de prenhez durante a época seca (81,58%) do que na chuvosa (63,82%) ( $P < 0,05$ ). Acredita-se que estes menores resultados obtidos durante a época chuvosa sejam devido às maiores exposições destas ovelhas às parasitoses e doenças pulmonares, além da qualidade das pastagens que pode ter sido afetada pelo excesso de chuva que ocorreu durante o experimento. Machado e Simplício (1998) já haviam

observado este efeito negativo da época chuvosa sobre o nascimento de cordeiros, evidenciado pelas quedas nas taxas reprodutivas devido à mortalidade das crias por pneumonias e por proliferação de eventuais patógenos no ambiente com maior umidade.

### Conclusões

Os diluentes à base de água de coco são indicados para utilização em inseminação artificial com sêmen resfriado em ovinos.

As épocas chuvosa e seca podem influenciar a fertilidade de ovelhas no estado do Ceará.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

### Referências

- AGUINSKI, P. I. A. Intra-uterina acelera o melhoramento genético. *Rev. A Granja*, Porto Alegre, n. 541, ano 49, 1993.
- ANEL, L.; KAABI, M.; de la FUENTE, L.F.; de PAZ, P. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology*, New York, v. 63, p.1235-1247, 2005.
- CARNEIRO, G.F. Transporte e criopreservação de sêmen equino. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, Supl., n. 5, p. 37-41, 2002.
- DONOVAN, A.; HANRAHAN, J.P.; KUMMEN, E. et al. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronized oestrus. *Anim. Reprod. Sci.*, Amsterdã, v. 84, p. 359-368, 2004.
- MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Efeito da raça do padreador e da época de monta sobre a eficiência reprodutiva de ovelhas deslanadas acasaladas com reprodutores de raças especializadas de corte. *Rev. Bras. Zoot.*, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 54-59, 1998.
- MAXWELL, W.M.C.; SALAMON, S. Liquid Storage of Ram Semen: a Review. *Reprod. Fertil. Dev.*, Collingwood, v. 5, p. 613-638, 1993.
- MILCZEWSKI, V.; KOZICKI, L.E.; NEVES, J.P. Viabilidade do sêmen ovino refrigerado em diferentes diluentes, *Arch. Vet. Sci.*, Curitiba, v. 5, p. 29-33, 2000a.
- MILCZEWSKI, V.; KOZICKI, L.E.; LUZ, S.L.N. et al. Inseminação intrauterina e cervical em ovelhas utilizando sêmen refrigerado. *Arch. Vet. Sci.*, Curitiba, v. 5, p. 35-39, 2000b.
- ROCA, J.; MARTÍNEZ, S.; VASQUEZ, J.M. et al. Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in Tris-buffer extenders and stored at 15°C. *Anim. Reprod. Sci.*, Amsterdã, v. 64, p. 103-112, 2000.
- SALGUEIRO, C.C.M.; NUNES, J.F.; OLIVEIRA, K.P.L. et al. Utilização de diluentes à base de água de coco *in natura* e em pó na inseminação artificial programada de cabras. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, Supl., n. 5, p. 96-98, 2002.
- SILVA, A.E.D.F.; NUNES, J.F. Estacionalidade na atividade sexual e qualidade do sêmen nos ovinos deslanados das raças Santa Inês e Somalis. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v. 8, p. 207-214, 1984.
- SOUSA, D.B. *Viabilidade do sistema Equitainer® na refrigeração do sêmen ovino avaliado pelas análises computadorizada, de microscopia epifluorescente e inseminação artificial*, 2002. 103 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.