

## INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM ÉGUAS COM SÊMEN “*IN NATURA*” E DILUÍDO (Artificial insemination in mares with “*in natura*” and diluted semen)

WEISS, R.R.<sup>1</sup>; VIANNA, B.C.<sup>2</sup>; MURADÁS, P.R.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, UFPR;

<sup>2,3</sup>Médicas Veterinárias Autônomas.

**RESUMO** – Na pesquisa objetivou-se comparar a eficiência reprodutiva de dois métodos distintos de Inseminação Artificial (IA), através de espéculo de Polansky e condução manual de pipeta, com diferentes características de sêmen (“*in natura*” e diluído). Foram utilizadas 302 éguas da raça Crioula, com idades variando entre 3 e 14 anos, oriundas de propriedades da região Metropolitana de Curitiba. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais: A – aqueles que foram inseminados com sêmen “*in natura*” (n=160); através da técnica com espéculo de Polansky (n=80) e pipeta orientada manualmente (n=80); B – animais inseminados com sêmen diluído (n=142). O acompanhamento do ciclo estral foi realizado através de ultrassonografia e palpação retal bem como o diagnóstico de gestação que foi realizado entre os dias 16-45 pós-ovulação. A eficiência reprodutiva das duas técnicas de inseminação (Polansky e Manual) foi de 76,2% e 75% respectivamente, não diferindo significativamente entre si, bem como a eficiência reprodutiva dos resultados da inseminação com sêmen diluído e “*in natura*” foram 74,3% e 75,5% respectivamente.

**Palavras chave:** égua, sêmen, inseminação artificial.

**ABSTRACT** – With the aim to compare the reproductive efficiency of two different methods for artificial insemination, namely through the Polansky’s speculum and by a manual directed pipette, with semen either “*in natura*” or diluted, 302 mares of the Creole race, ageing from 3 to 14 years, all of them belonging to properties from the Metropolitan Area of Curitiba, were used divided in two experimental groups: A – those that would be inseminated with semen “*in natura*” (n=160), being 80 with Polansky’s spectrum and 80 by means of a manual directed pipette; B – animals inseminated with diluted semen (n=142). The following up of the estral cycle was accomplished by means of ultrasonography and rectal palpation as well as the gestation diagnosis, which was accomplished at 16 to 45 days after the ovulation. The reproductive efficiency of the two insemination techniques (Polansky and Manual) was 76,25% and 75%, respectively, not differing significantly between each other. The reproductive efficiency of the results of the insemination with diluted semen and “*in natura*” was 74,3% and 75,5%, respectively.

**Key words:** mare, semen, artificial insemination.

### Introdução

A criação de cavalos destinados às competições esportivas sofreu um grande aumento nas últimas décadas. O plantel aumentou significativamente sem que existisse um número adequado e proporcional de bons ganhões à disposição nas temporadas reprodutivas. Esse fato, aliado às vantagens econômicas e sanitárias, vem proporcionando uma crescente aceitação no uso de diferentes biotécnicas ligadas à reprodução.

Entre as diferentes biotecnologias atualmente empregadas, a inseminação artificial (IA) é a

que demonstra a maior viabilidade econômica e facilidade na implantação, nas diferentes espécies domésticas aonde seu uso já se tornou consagrado.

Dentro da espécie eqüina, atualmente nas raças que permitem o uso da inseminação artificial, esta vem sendo empregada com bons índices de fertilidade, além de proporcionar um menor desgaste do ganhão e possibilitar o progresso genético do plantel existente.

A IA com sêmen fresco “*in natura*” apresenta resultados encorajadores, ao passo que a presença do ganhão no local de inseminação é um fator limitante surgindo a utilização de

sêmen fresco diluído ou congelado, como solução ideal (HEISKANEN *et al.*, 1994).

Numerosos diluentes são utilizados para resfriar, armazenar, transportar e congelar o sêmen de garanhões e sua finalidade é favorecer a longevidade máxima de fertilidade das células espermáticas, embora se saiba que existe significativa variação e imprevisibilidade de tolerância frente aos diluentes e técnicas de resfriamento e congelamento. Segundo PALMER (1984) apenas 50% dos garanhões apresentam boas taxas de fertilidade após o descongelamento.

Atualmente existem várias técnicas de diluição, resfriamento e congelamento sendo empregadas na espécie eqüina, com diferentes taxas de sucesso. Estes índices dependem da tolerância do sêmen do reprodutor frente ao diluente ou da técnica utilizada, além de fatores ligados à égua e ao manejo dos animais (PICKETT e AMANN, 1987).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a fertilidade do sêmen eqüino a fresco e diluído adotando-se diferentes técnicas de IA.

### Material e Métodos

Foram realizados dois experimentos, A e B. No experimento A utilizou-se 160 éguas da raça Crioula, com idade entre 3 e 14 anos, alocadas em propriedades da Região Metropolitana de Curitiba. Neste, objetivou-se testar a eficiência das técnicas de IA, com sêmen "*in natura*", utilizando-se o espéculo de Polansky e a técnica da pipeta orientada manualmente.

No experimento B utilizou-se 142 éguas da raça Crioula com idade de 3 a 14, também alocadas em propriedades da Região Metropolitana de Curitiba. Neste experimento o objetivo foi testar a eficiência da IA com sêmen diluído e "*in natura*", empregando-se pipeta orientada manualmente. As éguas inseminadas com sêmen "*in natura*" foram as 160 éguas do experimento A.

No experimento A, as éguas apresentavam-se clínico e ginecológicamente normais, sendo inseminadas na estação de monta, nos meses de novembro a janeiro. Os animais foram divididos em dois grupos de 80 animais cada:

a) Em estro induzido com Prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) no 20º. dia pós-parto;

b) Éguas no 2º estro pós-parto (30º. dia).

O manejo alimentar foi realizado em pastagens de azevém (*Lolium multiflorum*) e trevo branco (*Trifolium repens*), como pastagens de inverno e primavera, e no verão com pastagem de milheto (*Pennisetum repens*) e sal mineral à vontade. O manejo sanitário dos animais foi realizado com administração de vermífugo periodicamente, vacinação contra raiva, tétano e influenza eqüina.

A éguas foram monitoradas diariamente por palpação retal e ultrasonografia ovárica para o acompanhamento da dinâmica folicular. A inseminação foi realizada quando o folículo atingia 30 mm, sendo realizadas no máximo duas inseminações com intervalo de 36 horas. Nas éguas recém-paridas, a inseminação artificial foi realizada somente no segundo cio, o que ocorria aproximadamente no 30º. dia pós-parto. O manejo alimentar e sanitário, bem como o controle reprodutivo acima descrito também foi idêntico no experimento B.

A colheita do sêmen foi realizada com vagina artificial modelo Hannover, sendo o ejaculado filtrado e avaliado macroscópica e microscópica. O ejaculado foi fracionado, contendo cada dose inseminante, 400 milhões de espermatozoides com motilidade progressiva, para imediatamente realizar a inseminação artificial. O mesmo procedimento foi realizado no experimento B.

A inseminação com espéculo de Polansky foi realizada após a limpeza da vulva com papel toalha, sendo o espéculo de Polansky introduzido na vagina e após a visualização da cérvix, esta foi fixada mediante a pinça de colo de útero tipo Albrechtsen, para sua distensão em sentido caudal de modo a facilitar a introdução da pipeta até o corpo do útero.

A dose inseminante foi depositada com seringa adaptada à pipeta de inseminação, sendo em seguida retirada a pinça de colo de útero, pipeta e espéculo.

A IA com pipeta orientada manualmente foi realizada após a limpeza da vulva e seus arredores com papel toalha e na seqüência foi calçada luva plástica para toque retal lubrificada com soro fisiológico. A extremidade anterior da pipeta de plástico (modelo IA para bovinos), foi protegida com a mão para a introdução na vagina, sendo a mesma orientada pelo dedo

indicador para passagem pela cérvix. O sêmen foi aplicado no corpo do útero, com seringa de plástico adaptada à pipeta.

O diagnóstico de gestação foi realizado através de exame ultrasonográfico e palpação retal após 16 dias da data da inseminação, sendo o controle realizado até o 45º. dia de prenhez para o diagnóstico de eventual reabsorção embrionária.

A eficiência reprodutiva dos experimentos foi determinada levando-se em consideração o número de éguas inseminadas, que pariram potro normal. A análise estatística dos dados foi realizada através do teste do qui-quadrado.

No experimento B, as éguas (clínica e ginecológicamente normais) encaixaram-se nas categorias de:

- a) Éguas com potro ao pé;
- b) Éguas vazias.

Após a colheita do sêmen, o mesmo foi filtrado, mantido à temperatura ambiente (15 a 25°C) e avaliado macroscópica e microscopicamente. A diluição foi realizada com diluente NAGASE e NIWA (1964) na proporção 1:1. O fracionamento do ejaculado foi efetuado para que cada dose inseminante contivesse 400

milhões de espermatozoides com motilidade progressiva, sendo o sêmen utilizado, logo após a diluição.

## Resultados

São mostrados na TABELA 1 os dados do experimento A, onde se empregou a IA em éguas com sêmen "in natura" utilizando-se o espéculo de Polansky ou pipeta orientada manualmente. Dos 80 animais inseminados com a técnica do espéculo de Polansky, 65 apresentaram gestação, perfazendo 81,2%. Foram efetuados exames ultrasonográficos para diagnóstico de gestação do 16º. ao 45º. dia, observando-se reabsorção embrionária em 4,6%. Durante a gestação foi observada neste grupo, a ocorrência de um aborto no 5º. mês. Dos 80 animais pertencentes a este grupo foi observado 76,2% de eficiência reprodutiva. Dos animais inseminados com a técnica de pipeta orientada manualmente, 63 ficaram prenhe (78,8%). Nesse grupo houve 3,2% de reabsorção embrionária e um aborto no 3º. mês de gestação, perfazendo 75% de eficiência reprodutiva.

TABELA 1 – RESULTADOS DE ÉGUAS SUBMETIDAS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL ATRAVÉS DA TÉCNICA COM ESPÉCULO DE POLANSKY OU PIPETA MANUALMENTE ORIENTADA, NA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA, 2000 (n=160).

	espéculo de Polansky		Manual	
	N	(%)	N	(%)
Nº de éguas	80		80	
gestação até o 45º. dia	65	81,2	63	78,8
reabsorção embrionária	3	4,6	2	3,2
Aborto	1	1,5	1	1,6
eficiência reprodutiva	61	76,2	60	75

Os resultados do experimento B, estão expostos na TABELA 2.

TABELA 2 – RESULTADOS DE ÉGUAS INSEMINADAS COM SEMEN "IN NATURA" OU DILUÍDO COM DILUENTE DE NAGASE E NIWA, NA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA, 2000 (n=302).

	"in natura"		diluído*	
	n	(%)	n	(%)
Nº de éguas inseminadas	160	100	142	100
gestação*	128	80,0	112	78,9
reabsorção embrionária	5	3,9	3	2,6
Aborto	4	3,1	3	2,6
eficiência reprodutiva	119	74,3	106	74,6

## Discussão

Na avaliação estatística dos resultados encontrados entre as duas técnicas utilizadas no experimento A (IA em éguas com sêmen “*in natura*” utilizando espéculo de Polansky e pipeta orientada manualmente), não houve diferença significativa quanto ao índice de prenhez, reabsorção embrionária, aborto e eficiência reprodutiva.

Por sua vez pode-se, observar no experimento B, que a IA em égua com sêmen “*in natura*” e diluído imediatamente após a colheita, não apresentou diferença significativa entre os dois grupos, não sendo necessária a diluição do sêmen. Entretanto KENNEY *et al.* (1975) relatam que para conservação do sêmen por um período mais longo é necessário a diluição com meios enriquecedores, evitando-se a aglutinação espermática e reduzindo-se as influências de concentração de PH seminal. HEISKANEN *et al.*, (1994), observaram que o sêmen de garanhões diluído, sustentou a capacidade fertilizante por mais de 80 horas quando coletado, diluído e utilizado em inseminações artificiais até 12 horas após a ovulação. Existe um consenso quanto à capacidade dos diluentes protegerem e prolongarem a vida das células espermáticas. PICKETT e AMANN (1987) e BRINSKO e VARNER (1992), concluíram que a adição de diluentes ao sêmen visa proteger os espermatozoides de condições ambientais desfavoráveis e prolongar sua sobrevivência. Em razão destas propriedades benéficas dos diluidores, BLANCHARD *et al.*, (1987), afirmaram que há aumento da viabilidade do sêmen de garanhões subfêrteis, quando da adição de diluentes ao sêmen.

Com a diluição pretende-se reduzir perdas de espermatozoides no equipamento de inseminação, quando são utilizados pequenos volumes de sêmen altamente concentrado, prolongar a viabilidade dos espermatozoides e permitir o resfriamento, a estocagem e o transporte a longas distâncias (PICKETT *et al.*, 1975).

## Conclusão

Os resultados do presente trabalho permitem concluir que não há diferença significativa entre os grupos de éguas inseminadas com espéculo de Polansky e condução manual de pipeta, bem como entre os grupos de animais, ao se utilizar sêmen “*in natura*” e diluído imediatamente após a colheita, seguido da IA.

## Referências

- BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; LOVE, C.C.; HURTGEN, J.P.; CUMMINGS, M.R.; KENNEY, R.M. User of semen extender containing a antibiotic to improve the fertility of a stallion with seminal vesiculitis due to *Pseudomonas aeruginosa*. **Theriogenology**, New York, v.28, n.4, p.541-546, 1987.
- BRINSKO, S.P.; VARNER, D.D. Artificial insemination and preservation of semen. In: BLANCHARD, T.L; Stallion management. **Veterinary Clinic North America: Equine Practice**, Philadelphia, v.8, n.1, p.205-218, 1992.
- HEISKANEN, M.L.; HUHTNEN, M.; PIHONEN, A.; MÄENPO Ä.Ä.; P.H. Insemination results with slow-cooled stallion semen stored for 70 or 80 hours. **Theriogenology**, New York, v.42, p.1043-1051, 1994.
- KENNEY, R.M.; BERGMAN, R.V.; COOPER, W.L.; MORSE, G.W. Minimal contamination technique for breeding mares: technique and preliminary findings. Proceedings. **American Association Equine Practice**, v.21, p.327-336, 1995.
- NAGASE, H.; NIWA, T. Deep freezing Bull sêmen in concentrated pellet form. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 1964, v.4, p.410-415.
- PALMER, E. Factors affecting stallion semen survival and fertility. In: **International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination**, 10, Urbana. Proceedings... Urbana, University if Illinois, 1984. v.3, p.377-379.
- PICKETT, B. W. BURWASSH, L. D.; VOSS, J. L.; BACK, D. G. Effect of seminal extenders on equine fertility. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.40, n.6, p.1136-1146, 1975.
- PICKETT, B. W.; AMANN, R. P. Extension and storage of stallion spermatozoa: a reiew. **Journal Equine Veterinary Science**, Wild California, v.7, n.5, p.289-302, 1987.

Recebido: 27/08/2002

Aprovado: 02/06/2003