

INFLUÊNCIA DE ASPECTOS TÉCNICOS E ANATÔMICOS NOS ÍNDICES DE FERTILIDADE BASEADO NO DESEMPENHO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL TRANSCERVICAL EM OVINOS.

INFLUENCE OF ANATOMICAL AND TECHNICAL ASPECTS ON FERTILITY RATE BASED ON SHEEP TRANSCERVICAL ARTIFICIAL INSEMINATION PERFORMANCE

G. S. TAQUEDA¹, H. C. AZEVEDO², E. M. SANTOS³, J. E. MATOS¹, R. F. BITTENCOURT⁴, S.D. BICUDO⁴

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo analisar a influência de aspectos técnicos e anatômicos no desempenho da inseminação artificial transcervical (IATC), sobre a fertilidade em ovinos. Foram realizadas inseminações artificiais transcervicais com tração da cérvix em 122 ovelhas sendo utilizado sêmen congelado de 11 carneiros, todos os animais da raça Santa Inês. Durante a inseminação foram coletados dados como o tipo de orifício superficial da cérvix (OS): P (papila); FL (flap); BP (bico de pato); ES (espiral); FD (flor desabrochada), duração da manipulação cervical (2 a 3, 4 a 5 e 6 a 7 minutos), grau de dificuldade na transposição cervical (baixo, moderado e alto) e local presumido de deposição do sêmen (CS – cervical superficial; CP– cervical profundo; IU – intrauterino). Avaliou-se a influência destas variáveis sobre a fertilidade refletida pela taxa de prenhez. Os tipos de OS e a duração da manipulação cervical não apresentaram influência ($p>0,05$) sobre a fertilidade. O grau de dificuldade na manipulação cervical influenciou ($p<0,05$) a taxa de prenhez: fêmeas que apresentaram baixo grau obtiveram 52,0%, enquanto aquelas com alto grau obtiveram apenas 20,0% de prenhez. Da mesma forma, o local presumido de deposição do sêmen influenciou significativamente ($p<0,05$) a taxa de fertilidade. As taxas de prenhez em cada local de deposição foram as seguintes: IU - 45,83%; CP – 25,7%; CS - 15,4%. Como era esperado, deposições mais profundas acarretaram em maior fertilidade. Conclui-se que o desempenho da IATC independe da classificação anatômica do orifício superficial cervical da ovelha e da duração da manipulação cervical dentro do intervalo testado (2 a 7 minutos). A IATC pode apresentar maiores taxas de fertilidade desde que se diminua a dificuldade em sua aplicação e se promova a deposição do sêmen mais profundamente.

PALAVRAS-CHAVE: Cérvix. Orifício superficial. Tração cervical. Ovino.

SUMMARY

The aim of this work was to examine both the influence of anatomical and technical aspects on fertility rate of sheep based on the performance of transcervical artificial insemination (TCAI). Transcervical artificial insemination was performed with traction of the cervix in 122 ewes using frozen semen from 11 rams, both Santa Ines breed. The data collected were the type of external cervical opening (CO): P (papilla); FL (flap); DB (duckbill), S (spiral); RO (rosette), duration of cervical manipulation (2-3, 4-5 and 6-7 minutes), degree of difficulty in cervical transposition (low, moderate, high) and presumed site of semen deposition (SC - superficial cervical; DC - deep cervical; IU - intrauterine). The influence of these variables on pregnancy rate was evaluated. OS types and duration of cervical manipulation had no influence ($p>0.05$) on fertility. The degree of difficulty in cervical manipulation influenced ($p<0.05$) pregnancy rate, since insemination classified as low grade had 52% of pregnancy, while those classified as high recorded only 20%. The presumed site of semen deposition influenced significantly ($p<0.05$) the fertility. Pregnancy rates of deposition at each site were: UI – 45.8%, DC – 25.7%; SC – 15.4%. As expected, the deeper depositions resulted in higher fertility. In conclusion, the performance of TCAI did not depend on the anatomical classification of external cervical OS of ewe and the duration of cervical manipulation within the range tested (2-7 minutes). The TCAI may have higher fertility rates if difficulties in their application were reduced and the semen deposition were deeper.

KEYWORDS: Cervix. Superficial opening. Cervical traction. Sheep.

¹Universidade Federal de Sergipe

²Embrapa Tabuleiros Costeiros

³Faculdade Pio X

⁴Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Botucatu

INTRODUÇÃO

A inseminação artificial transcervical (IATC) é uma poderosa ferramenta para possibilitar um rápido progresso genético em ovinos, por ser barata e de fácil aplicação entre os produtores (SAYRE & LEWIS, 1997). Entretanto, a IATC em ovinos geralmente apresenta baixos índices de fertilidade principalmente quando associada ao sêmen congelado (WINDSOR, 1994; PERRY et al., 2010), já que o processo de criopreservação danifica a estrutura dos espermatozoides, especialmente as mitocôndrias, a membrana plasmática e o acrossoma, além de levar à indução prematura dos processos de capacitação e reação acrossomal (WINDSOR & WHITE, 1995; AZEVEDO, 2007). Por outro lado, o sucesso de programas de inseminação associado ao melhoramento genético depende do uso de sêmen congelado, pois o sêmen fresco, uma vez colhido, tem durabilidade de aproximadamente 24 horas, o que limita o número de fêmeas a ser usado (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Outro motivo dos insucessos é devido à anatomia da cérvix ovina, que apresenta um canal tortuoso oriundo de intenso pregueamento interno e anéis desalinhados que dificultam a deposição intrauterina do sêmen (BICUDO et al., 2003).

Vários autores se propuseram a testar em ovinos meios e técnicas de inseminação associada ao sêmen congelado utilizando manobras para transpor a cérvix, porém poucos resultados satisfatórios foram relatados, principalmente quando comparados àqueles obtidos pela inseminação artificial laparoscópica (SOUZA, 1993; ANEL et al., 2005). Dentre essas técnicas, pode-se destacar a inseminação artificial com tração cervical. Souza (1993) comparou o desempenho da IATC em ovinos da raça Corriedale com e sem tração cervical e constatou que o uso do tracionamento trouxe um maior número de deposições intrauterinas.

No entanto, poucos autores buscaram analisar de forma mais ampla que fatores estariam contribuindo para os baixos índices de fertilidade obtidos com a IATC. Fatores que potencialmente podem influenciar o desempenho da inseminação artificial em ovinos com sêmen congelado, tais como a anatomia do orifício superficial da cérvix (HALBERT et al., 1990; KERSHAW et al., 2005); o local em que o sêmen é depositado no trato genital da ovelha durante a inseminação (WINDSOR, 1994; NAQVI et al., 1998), e a duração da manipulação da cérvix (SAYRE & LEWIS, 1997; MATOS et al., 2008), foram pouco explorados, especialmente no caso da raça Santa Inês. Este trabalho teve por objetivo avaliar mais profundamente a influência destes fatores anatômicos e tecnológicos relacionados à aplicação da técnica de inseminação artificial transcervical em ovinos Santa Inês.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e manejo

Para o experimento foram utilizados 11 carneiros e 122 ovelhas da raça Santa Inês em bom estado clínico e

nutricional. Foram utilizadas ovelhas, com idade entre 10 meses a seis anos, pluríparas (n = 86) e nulíparas (n = 36), com peso vivo (PV) entre 40 e 70 kg e escore corporal de 2,5 a 4,0 considerando uma escala de 1,0 a 5,0. Os carneiros utilizados tinham idade entre quinze meses e sete anos, pesavam entre 60 e 120 kg de PV e apresentavam escore entre 3,0 e 4,5 durante o experimento.

Sincronização do estro

As fêmeas foram divididas em dois grupos de igual tamanho e submetidas a dois protocolos de sincronização do estro (P₁ e P₂), a fim de avaliar se há influência do tempo de inserção do progestágeno sobre as variáveis testadas. O P₁ consistiu na inserção de esponja impregnada com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) durante 12 dias e concomitante à retirada, aplicação de 350 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG). O P₂ consistiu na aplicação de 45 µg de cloprostenol (PGF₂α) no dia zero (D0), colocação do MAP no dia dois (D2), remoção das esponjas, aplicação pela via intramuscular de 350 UI de eCG e 45 µg de cloprostenol (PGF₂α) no dia seis (D6) e a aplicação intramuscular de 25 µg de Lecirelina (GnRH) no dia oito (D8) (BISCARDE et al., 2009; BISCARDE, 2010). Em ambos os protocolos, as fêmeas foram submetidas à detecção de estro com auxílio de rufiões vasectomizados duas vezes por dia.

Inseminação artificial

As fêmeas foram submetidas à inseminação artificial transcervical (IATC) com tração cervical segundo técnica descrita por Halbert et al. (1990) e a aplicação do sêmen feita com uso do mini aplicador expansor para ovinos (Alta Genetics – patente N.ºMU8502569-0). As ovelhas eram contidas com a ajuda de um tronco tipo maca desenvolvido por Matos et al. (2008), no qual o animal ficava inicialmente em posição quadrupedal e posteriormente era inclinado em um ângulo aproximado de 45° em relação ao solo, de forma que os membros caudais ficavam mais altos que a cabeça. Após a contenção da fêmea, o inseminador inseria um espécule previamente lubrificado e em seguida, após a localização da cérvix, realizava o pinçamento da cérvix com a pinça de Allis de 25 cm de comprimento fixada nos tecidos adjacentes à cérvix. Com auxílio de outra pinça de Hallis e dos dedos indicador e polegar, realizava-se a manipulação da cérvix para a introdução do aplicador expansor seguida da inseminação propriamente dita.

Classificação anatômica de orifício superficial da cérvix (OS)

O orifício superficial da cérvix (OS) foi classificado em todos os animais inseminados utilizando-se metodologia proposta por Halbert et al. (1990) e modificada por Kershaw et al. (2005), através das quais os tipos de OS foram pré-estabelecidos como segue: papila (P), flap (FL), bico de pato (BP), espiral (ES) e flor desabrochada (FD). A classificação foi feita visualmente pelo inseminador com auxílio do

vaginoscópio e confirmada no momento da tração da cérvix e realização da inseminação.

Duração da manipulação cervical

A duração da manipulação da cérvix foi controlada e registrada com ajuda de um cronômetro. Esta duração foi definida como sendo o tempo compreendido entre o primeiro pinçamento para a tração da cérvix e o final da deposição do sêmen no genital da ovelha. A duração da manipulação da cérvix durante cada inseminação foi determinada pelo acaso, ficando apenas pré-estabelecido o tempo máximo de sete minutos para a tentativa de se realizar a completa transposição cervical e deposição intrauterina do sêmen. Para análise dos dados, as inseminações foram agrupadas em três categorias ou durações: 2 a 3, 4 a 5 e 6 a 7 minutos.

Grau de dificuldade na transposição cervical

Dois inseminadores classificaram o grau de dificuldade na aplicação da técnica de IATC de acordo com o seu sucesso e facilidade em transpor a cérvix da ovelha tendo como objetivo atingir o corpo do útero e permitir a deposição intrauterina do sêmen. Ao terminarem o ato inseminatório, os inseminadores classificaram de forma subjetiva o grau de dificuldade na aplicação da técnica em três níveis: baixo, moderado e alto.

Local presumido de deposição do sêmen

Logo após a inseminação artificial, o inseminador também determinou de forma presumida, o local onde foi depositado o sêmen no trato uterino da fêmea. Três locais de deposição ficaram predefinidos antes da inseminação: cervical superficial (CS), onde o sêmen foi presumidamente depositado até o terceiro anel cervical; cervical profundo (CP), no qual o sêmen foi depositado supostamente após o terceiro anel cervical e; intrauterino (IU), no qual o sêmen foi depositado no lúmen do corpo do útero.

Diagnóstico de gestação

As fêmeas foram submetidas ao diagnóstico de gestação por ultrassonografia 39 a 48 dias após o dia da inseminação utilizando-se aparelho bidimensional da General Eletrics (GE), com transdutor linear de 5 MHz, através de técnica ultrassonográfica transretal. A partir desse exame calculou-se a taxa de prenhez das ovelhas inseminadas, parâmetro utilizado para avaliar o desempenho da IATC e influência das variáveis estudadas.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do programa MINITAB, versão 15. As comparações entre grupos foram feitas pelo teste do qui-quadrado e pelo teste Z de comparação das proporções médias, ambos ao nível de significância de 5%.

que 85 (69,7%) foram negativas. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os inseminadores sobre os índices de fertilidade.

Classificação anatômica do anel cervical externo (OS)

Todos os tipos de OS relatados por Halbert et al. (1990), Souza (1993) e Kershaw et al. (2005) em outras raças de ovinos foram também identificados neste experimento com a raça Santa Inês. As frequências dos tipos espiral (ES), bico de pato (BP) e flap (FL) foram baixas e insuficientes para participar da análise estatística, o tipo ES foi encontrado em apenas três animais (2,4%), seguido pelo BP encontrado em 14 fêmeas (11,5%) e o FL em 20 fêmeas (16,4%). Apenas os tipos flor desabrochada (FD) e papila (P) apresentaram número suficiente de prenhez para possibilitar a análise estatística pelo teste Z para comparação das proporções médias, a fim de identificar sua influência na taxa de prenhez. O tipo FD foi classificado em 36 fêmeas (29,5%), sendo que 12 delas (9,8%) foram diagnosticadas positivamente para taxa de prenhez. O tipo P foi classificado em 49 fêmeas (40,2%), sendo que 21 (17,2%) ficaram prenhes. Não houve diferença significativa ($Z = -0,90$; $p = 0,368$) nas taxas de prenhez das ovelhas que apresentaram cérvix do tipo FD e P.

Halbert et al. (1990) avaliaram 100 ovelhas de diversas raças lanadas e relataram a prevalência de 35% para o tipo FD, com igual frequência do tipo FL (35%), seguida pelos tipos ES e BP com 15% cada um. Os autores afirmaram que os tipos de OS não influenciaram significativamente a taxa de fertilidade e concluíram não ser possível correlacionar o tipo de OS com outras características como o tamanho, número de anéis e espessura. Embora os resultados de Halbert et al. (1990) sejam semelhantes àqueles obtidos neste experimento quanto à frequência dos tipos FD e FL, os demais tipos apresentaram diferenças na sua frequência, o que pode ser justificado possivelmente pelas diferenças anatômicas inerentes a cada raça. Os referidos autores utilizaram as raças Suffolk e seus cruzados, Cheviot, Dorset, Leicester, Clun Forest e cruzados de Hampshire, enquanto este estudo utilizou somente animais da raça Santa Inês, o que torna o grupo experimental mais homogêneo.

A distribuição dos tipos de OS entre as ovelhas deste experimento diferiram da identificação realizada por Souza (1993), que classificaram os orifícios em apenas quatro tipos (FL, FD, BP e ES). A autora avaliou 272 cérvix de ovelhas, sendo 138 da raça Corriedale e 134 da raça Ideal e constatou uma frequência acentuada do tipo FL, com 69,12%, seguido pelo tipo FD com 25,73% e os tipos BP e ES com 3,68% e 1,47% respectivamente. Essa diferença na prevalência dos tipos de OS pode também ser explicada pela diferença das raças utilizadas, entre as raças Santa Inês deslanada e Corriedale e Ideal lanadas. Segundo a autora ainda, os tipos de OS também não influenciaram a taxa de fertilidade, demonstrando que o tipo de orifício superficial da cérvix pode não ser um indicador do grau de dificuldade na transposição

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 122 fêmeas inseminadas, 37 (30,3%) tiveram o diagnóstico positivo para taxa de prenhez, enquanto

cervical, não influenciando no desempenho da inseminação artificial transcervical em ovinos.

Por sua vez, Kershaw et al. (2005) avaliaram 297 cérvix provenientes de animais sem raça definida (SRD) e constataram que houve maior prevalência do tipo FL, com 36% do total das peças, seguido pelo tipo BP, com 25,9% e FD com 18,9%. O restante ficou dividido entre os demais tipos (P = 12,5%; ES = 6,7%). Os resultados obtidos no presente trabalho diferiram dos dados de Kershaw et al. (2005) quanto à distribuição dos tipos de OS entre os animais. Os referidos autores relataram que o tipo de OS foi influenciado pela idade, mas não pela fase do ciclo estral e que o tipo FD foi observado mais frequentemente em ovelhas jovens enquanto que o tipo P foi mais prevalente nas ovelhas mais velhas.

Neste experimento, o tipo de OS também foi influenciado pela ordem de parto e conseqüentemente pela idade. Entre as nulíparas, o tipo mais prevalente foi o P, com 69,7% dos animais, os tipos FL, FD e BP apresentaram respectivamente 9,1%; 12,1% e 9,1%;

denotando a disparidade entre o tipo P e os demais. O tipo ES não foi encontrado entre as nulíparas.

Entre as pluríparas, a distribuição foi mais homogênea, sendo que o tipo FD foi mais prevalente, com 35,9% dos animais, seguido do tipo P com 29,2%. Os tipos FL, BP e ES obtiveram respectivamente 19,1%; 12,4% e 3,4% dos casos.

Muitas diferenças encontradas na frequência do tipo de OS podem ser atribuídas também à metodologia utilizada para fazer esta observação. A maioria dos autores fizeram esta classificação diretamente em peças anatómicas de animais abatidos, enquanto que neste trabalho isto era feito no animal vivo com auxílio de um espécúlo vaginal.

Duração da manipulação cervical

A tabela 1 sumariza a porcentagem de animais com diagnóstico de gestação positivo ou negativo em relação aos períodos de duração da manipulação da cérvix, durante a inseminação artificial transcervical em ovelhas da raça Santa Inês.

Tabela 1 - Taxa de prenhez relacionada à manipulação da cérvix durante a IATC em ovelhas da raça Santa Inês.

Diagnóstico de gestação	Duração da manipulação da cérvix (minutos)			Total
	2-3	4-5	6-7	
Positivo	45,8% (11)	30,8% (20)	18,2% (6)	(37)
Negativo	54,2% (13)	69,2% (45)	81,8% (27)	(85)
Total	100% (24)	100% (65)	100% (33)	(122)

Qui-quadrado = 5,041; graus de liberdade = 2.

Tabela 2. Taxa de prenhez relacionada ao local presumido de deposição do sêmen durante a IATC em ovelhas da raça Santa Inês.

Diagnóstico de gestação	Local presumido de deposição do sêmen		
	Cervical superficial	Cervical profundo	Intrauterino
Positiva	15,4% (6) ^b	25,7% (9) ^b	45,8% (22) ^a
Negativa	84,6% (33) ^a	74,3% (26) ^a	54,2% (26) ^b
Total	32,0% (39)	28,7% (35)	39,3% (48)

Qui-Quadrado = 9,936; graus de liberdade = 2; p = 0,007.

Valores acompanhados de letras diferentes na mesma linha diferem significativamente (p<0,05)

Tabela 3. Taxa de prenhez relacionada ao grau de dificuldade em transpor a cérvix durante a IATC em ovelhas da raça Santa Inês.

Taxa de prenhez	Grau de dificuldade em transpor a cérvix		
	Baixo	Moderado	Alto
Positiva	52,0% (13) ^a	34,0% (11) ^b	20,0% (13) ^b
Negativa	48,0% (12) ^b	66,0% (21) ^a	80,0% (52) ^a
Total	100% (25)	100% (32)	100% (65)

Qui-quadrado = 9,086; graus de liberdade = 2.

Valores acompanhados de letras diferentes na mesma linha diferem significativamente (p<0,05)

A duração do ato inseminatório não apresentou influência sobre a fertilidade ($p>0,05$) e apesar de não significativa, houve uma tendência de diminuição da fertilidade à medida que aumentava o tempo de manipulação, o que pode ser constatado ao se observar que o número de fêmeas com diagnóstico positivo para prenhez foi numericamente maior no grupo com menor duração da manipulação da cérvix. A partir disto, podemos mencionar a possibilidade de o menor intervalo de manipulação poder levar à maior fertilidade, sendo essa possibilidade ratificada pelos resultados numericamente inferiores da taxa de prenhez para os animais cujas cérvix foram manipuladas na duração de 6 a 7 minutos. Colaborando também com esta tendência, a duração de 4 a 5 minutos apresentou uma proporção intermediária entre diagnósticos positivos e negativos. Experimentos adicionais testando um maior espectro e um maior número de intervalos de tempo poderão ser conduzidos para se comprovar esta tendência.

Sayre e Lewis (1997) realizaram IATC em 75 ovelhas das raças Suffolk, Dorset e Hampshire e não conseguiram prenhez em nenhuma fêmea. Dentre as possíveis causas, os autores citam a possibilidade da manipulação cervical ter um efeito desfavorável na fertilidade por afetar o transporte espermático no trato reprodutor feminino. Os autores também hipotetizam a existência de uma substância espermicida produzida a partir da manipulação cervical. O uso de cateteres e aplicadores pode causar danos súbitos às zonas sensíveis da cérvix, o que pode acarretar aumento nos níveis de ocitocina endógena em resposta ao estímulo adrenérgico e isto pode estar relacionado à redução na fertilidade (ANEL et al. 2006). Matos et al. (2008) relatam em seu experimento com ovelhas Santa Inês, que as fêmeas com maior tempo gasto na manipulação da cérvix tiveram maior frequência de diagnóstico negativo para prenhez, corroborando a hipótese levantada.

Com base nestes indícios, pode-se sugerir que uma limitação no tempo de manipulação da cérvix durante a IATC incrementaria positivamente a fertilidade. A duração média de quatro a cinco minutos de manipulação demonstrou um maior equilíbrio entre os dois tipos de diagnósticos possíveis (positivo e negativo), podendo ser mais aconselhável este limite de tempo para tentar depositar o sêmen dentro do útero no uso da IATC em ovinos.

Local presumido de deposição do sêmen

O local presumido de deposição do sêmen influenciou significativamente ($P<0,05$) a taxa de prenhez. A deposição intrauterina resultou em maior fertilidade em relação aos demais locais, corroborando os achados de Windsor (1994), Naqvi et al. (1998) e Paulenz et al. (2005). Por outro lado, não houve diferença significativa na taxa de prenhez ($P>0,05$) entre a deposição cervical superficial e profunda. Os resultados obtidos para esse parâmetro estão demonstrados na tabela 2.

Considerando apenas o diagnóstico positivo de prenhez, houve diferença significativa ($p<0,05$) entre os grupos com deposição cervical superficial e

profunda em relação ao grupo com deposição intrauterina, o que ressalta a importância do local de deposição do sêmen sobre a fertilidade. Naqvi et al. (1998) relatam maior taxa de prenhez tanto nas fêmeas que tiveram o sêmen depositado após o quarto anel cervical (28,5%) como nas fêmeas que tiveram o sêmen depositado dentro do útero (27,2%) quando comparada às fêmeas inseminadas no OS cervical (0,0%). Esse relato corrobora os resultados obtidos no presente trabalho, já que os referidos autores obtiveram taxas de prenhez mais altas nas deposições mais profundas, no entanto, o fato da deposição cervical profunda ter tido igual taxa de prenhez a da deposição intrauterina discorda do presente trabalho, o que pode ser explicado pela diferença da idade, visto que Naqvi et al. (1998) só utilizaram fêmeas pluríparas, e pelas diferenças de raça e de pipetas de inseminação.

A raça é constantemente citada como fator crucial na morfologia cervical e, por conseguinte, também relevante na passagem do aplicador utilizado na IATC. Donovan et al. (2004) sugeriram em seu estudo que a raça pode ser um fator relevante sobre o sucesso da técnica de IATC, pois podem existir diferenças físicas determinantes na estrutura anatômica da cérvix. Essa possibilidade foi confirmada por Kaabi et al. (2006) que analisaram 365 tratos reprodutivos de quatro raças (Churra: $n = 95$; Assaf: $n = 58$; Merino: $n = 156$; Castellana: $n = 56$) e concluíram que este fator influencia significativamente a morfologia da cérvix. Segundo eles, raças como Assaf e Churra apresentam cérvix com grande número de anéis cervicais e o diâmetro cervical pequeno quando comparada às cérvices das raças Merino e Castellana, as quais possuem cérvices mais grossas e com menor número de anéis. Os referidos autores também realizaram inseminações transcervicais nas quatro raças supracitadas e constataram que houve diferença significativa na penetração da pipeta inseminadora entre elas, sendo a Merino e Castellana com maior ocorrência de deposições intrauterinas.

Os resultados de Paulenz et al. (2005) refletiram as possibilidades de sucesso no uso da IATC em ovinos. Os autores realizaram experimento em 10 fazendas, utilizando 543 fêmeas norueguesas cruzadas e seis reprodutores da mesma raça, tendo encontrado diferença significativa entre a deposição vaginal e cervical do sêmen, entre as fazendas e entre os carneiros utilizados. As inseminações cervicais resultaram em número de nascimentos significativamente maior do que as inseminações vaginais (72,7% x 67,4%). Os autores afirmam que a fertilidade da raça Norueguesa e a afinidade dos criadores com a IATC favoreceram bons índices de prenhez e citam o fato de que a diferença no manejo e na alimentação entre as fazendas provavelmente colaboraram para as diferenças nos resultados.

Outra variável a ser considerada é a idade dos animais, que pode apresentar influência sobre o desempenho da técnica de inseminação. Neste experimento, a idade das ovelhas variou de 10 meses a 6 anos, o que acarretou em variação no número de deposições intrauterinas, as fêmeas mais jovens e nulíparas apresentaram média de 27,8% de deposições

intrauterinas, enquanto que as mais velhas e pluríparas apresentaram média de 46,0%. Em concordância, Windsor (1994) observou que a idade das ovelhas da raça Merino influenciou significativamente o número de deposições intrauterinas e conseqüentemente a fertilidade, visto que as fêmeas jovens tiveram baixos índices de deposição intrauterina (21,1%) quando comparadas com as mais velhas (41,2%). Em adição, Kaabi et al. (2006) afirmaram ter encontrado correlação entre a idade dos animais e a morfometria da cérvix, sendo que os animais mais velhos (>3 anos) apresentavam cérvix de maior tamanho e espessura e menor número de anéis cervicais.

Windsor (1994) também cita a ordem de parto das fêmeas utilizadas como fator relevante na IATC. O efeito da ordem de parto interferiu de maneira significativa na taxa de penetração cervical em ovelhas Merino, ficando com as maiores taxas as ovelhas com três ou mais partos (40% de deposições intrauterinas) seguida pelas fêmeas com um e dois partos (20% e 35% de deposições intrauterinas respectivamente).

Grau de dificuldade na transposição cervical

Embora o grau de dificuldade na aplicação da IATC tenha sido avaliado de forma subjetiva, esta avaliação pode demonstrar a relação estreita entre a dificuldade que o inseminador enfrenta na manipulação cervical e a fertilidade. A tabela 3 apresenta uma análise dos resultados desse parâmetro pelo teste do qui-quadrado.

O grau de dificuldade em transpor a cérvix influenciou de forma significativa ($p = 0,011$) a taxa de prenhez, tanto no diagnóstico de gestação negativo quanto positivo. Apenas 20% das fêmeas classificadas com grau de dificuldade alto tiveram o diagnóstico positivo para taxa de prenhez, por outro lado 52% das fêmeas classificadas com grau de dificuldade baixo ficaram prenhes. O grau moderado não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparado ao grau alto de dificuldade, embora nos casos negativos de prenhez estas classificações tenham apresentado diferenças numéricas expressivas entre si.

Diversos experimentos dedicaram-se a estudar a anatomia da cérvix e analisar a sua influência sobre fertilidade e prolificidade (HALBERT et al., 1990; DONOVAN et al., 2004; KAABI et al., 2006). Kershaw et al. (2005) atentaram para o fato de que, mesmo entre indivíduos da mesma raça, alguns são mais favoráveis à IATC do que outros, inclusive dentro do mesmo rebanho. Portanto, é possível que uma seleção de indivíduos com tais características favoráveis dentro de um programa de melhoramento genético acarrete na formação de um rebanho mais apto ao uso da IATC (DONOVAN et al., 2004).

A partir dos resultados da análise do grau de dificuldade na transposição cervical, é conivente referir que o grau baixo coincidiu com a maioria das fêmeas que tiveram deposição intrauterina do sêmen e conseqüentemente maior taxa de prenhez. Por outro lado, o grau de dificuldade alto acarreteu, na maioria dos casos, deposição cervical superficial, ficando o sêmen depositado presumidamente antes do terceiro anel cervical, sendo este o ponto de maior dificuldade

para passagem do aplicador, segundo achados de Leethongdee et al. (2007).

CONCLUSÕES

A inseminação artificial transcervical com sêmen congelado apresentou taxas de prenhez satisfatórias. A técnica de inseminação artificial transcervical mostrou-se viável em ovinos Santa Inês e seu desempenho pode ser melhorado, desde que se diminua a dificuldade na transposição cervical e se promova a deposição do sêmen intrauterinamente.

AGRADECIMENTO

A Maria Elena Santos Taqueda pela realização da análise estatística.

A Embrapa Tabuleiros Costeiros pelo apoio financeiro e por toda infra-estrutura que possibilitou a realização deste experimento. A FAPITEC pela bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS

ANEL, L.; KAABI, M.; ABROUG, B.; ALVAREZ, M.; ANEL, E.; BOIXO, J.C.; 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**, v.63, n.1, p.1235-1247, 2005.

ANEL, L.; ALVAREZ, M.; MARTINEZ-PASTOR, F.; GARCIA-MACIAS, V.; ANEL, E.; DE PAZ, P. Improvement strategies in ovine artificial insemination. **Reproduction Domestic Animal**, v.41, p.30-42, 2006.

AZEVEDO, H. C. **Integridade e funcionalidade dos espermatozoides ovinos submetidos à criopreservação após a incorporação de colesterol, desmoterol, ácido oléico-linoléico e alfa-lactalbumina**. 2007. 83 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP. Botucatu, 2007.

BICUDO, S. D.; SOUSA, D. B.; TAKADA, L. Possibilidades e limitações da inseminação com sêmen ovino refrigerado e biotécnicas associadas como estratégias de intensificação do manejo reprodutivo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.27, n.2, p.120-127, 2003.

BISCARDE, C. E. A.; BICUDO, S. D.; CROCOMO, L. F.; MAGALHÃES, L. D.; BITTENCOURT, R. F.; FERREIRA, D. O. L.; MONTEIRO, C. D.; OBA, E. Morfometria e função luteais em ovelhas Santa Inês cíclicas submetidas a protocolo de sincronização de estro com medroxiprogesterona e d-clopostenol associados ao benzoato de estradiol e lecorelina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 18. 2009. Belo Horizonte. **Anais**. Belo Horizonte: CBRA, 2009. P.242.

- BISCARDE, C. E. A. **Efeitos do benzoato de estradiol e/ou GnRH na função ovariana de ovelhas Santa Inês**. 2010. 101 p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Universidade Estadual paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP. Botucatu, 2010.
- DONOVAN, A.; HANRAHAN, J.P.; KUMMEN, E.; DUFFY, P.; BOLAND, M.P. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronized oestrous. **Animal Reproduction Science**, v.84, p.359-368, 2004.
- HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ B. Transporte e sobrevivência de gametas. In: Hafez, E.S.E. & Hafez, B., **Reprodução Animal**, Sétima Edição, Barueri-SP: Manole, 2004. p.83-96.
- HALBERT, G. W.; DOBSON, H.; WALTON, J. S.; BUCKRELL, B. C. A technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. **Theriogenology**, v.33, n.1, p.993-1010, 1990.
- KAABI, M.; ALVAREZ, M.; ANEL, E.; CHAMORRO, C. A.; BOIXO, J. C.; DE PAZ, P.; ANEL, L. Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: A postmortem study. **Theriogenology**, v.66, n.1, p.1876-1883, 2006 .
- KERSHAW, C. M.; KHALID, M.; MCGOWAN, M. R.; INGRAM, K.; LEETHONGDEE, S.; WAX, G.; SCARAMUZZI, R. J. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. **Theriogenology**, v.64, n.1, p.1225-1235, 2005.
- LEETHONGDEE, S.; KHALID, M.; BHATTI, A.; PONGLOWHAPAN, S.; KERSHAW, C. M.; SCARAMUZZI, R. J. The effects of the prostaglandin E analogue Misoprostol and follicle-stimulating hormone on cervical penetrability in ewes during the peri-ovulatory period. **Theriogenology**, v.67, n.1, p.767-777, 2007.
- MATOS, J. E.; OLIVEIRA, V. S.; ALMEIDA, T. S.; AZEVEDO, H. C. Uso da técnica de inseminação artificial em tempo fixo por via transcervical com sêmen congelado em ovelhas da raça Santa Inês no estado de Sergipe. In: V CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL. **Anais**. Aracaju-SE. 2008. Resumos B.
- NAQVI, S. M. K.; JOSHI, A.; BAG, S.; PAREEK, S. R.; MITTAL, J. P. Cervical penetration and transcervical AI of tropical sheep (Malpura) at natural oestrous using frozen-thawed semen. **Small Ruminant Research**, v.29, p.329-333, 1998.
- PAULENZ, H.; SÖDERQUIST, L.; ÅDNØY, A. B.; NORDSTOGA, B.; ANDERSEN BERG, K. Effect of vaginal and cervical deposition of semen on the fertility of sheep inseminated with frozen-thawed semen. **The Veterinary Record**, v.156, p.372-375, 2005.
- PERRY, K.; HARESIGN, W.; WATHES, D. C.; KHALID, M. Intracervical application of hyaluronan improves cervical relaxation in the ewe. **Theriogenology**, v.74, n.9, p.1685-1690, 2010.
- SAYRE, B. L.; LEWIS, G. S. Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopy or transcervical intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes. **Theriogenology**, v.48, p.267-275, 1997.
- SOUZA, M. I. L. **A via cervical na inseminação artificial ovina com sêmen congelado**. 1993. 47 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.
- WINDSOR, D. P. Factors influencing the success of transcervical insemination in merino ewes. **Theriogenology**. v. 43, p.1009-1018, 1994.
- WINDSOR, D. P.; WHITE, I. G. Mitochondrial injury to ram sperm due procedures associated with artificial insemination or frozen storage. **Animal Reproduction Science**, v.40, p.43-48, 1995.