

## Taxa de gestação em fêmeas Santa Inês inseminadas pela via transcervical com sêmen fresco associada ou não à anestesia epidural

*Gestation rate of Santa Inês females submitted to transcervical insemination with fresh semen associated or not to the epidural anesthesia*

SANTOS, Anselmo Domingos Ferreira<sup>2\*</sup>; SANTOS, Daniela Carvalho dos<sup>1</sup>;  
CONCEIÇÃO, Juliana Costa da<sup>1</sup>; CARVALHO, Álvaro Luiz Carcez<sup>1</sup>; LISBOA,  
Marcio Leandro de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade Pio Décimo; Laboratório de Reprodução Animal; Aracaju; Sergipe; Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Departamento de Ciências Básicas e Produção Animal, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

\*Endereço para correspondência: [anselmosantos@ufmt.br](mailto:anselmosantos@ufmt.br)

### RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da anestesia epidural com lidocaína, associada à técnica de inseminação artificial transcervical com sêmen fresco, sobre a taxa de gestação de fêmeas ovinas Santa Inês com estro sincronizado. Foram utilizadas 30 ovelhas múltiparas, cíclicas, da raça Santa Inês divididas aleatoriamente em três grupos: G1 (12 fêmeas inseminadas pela via transcervical sem a realização prévia de anestesia epidural com lidocaína), G2 (12 fêmeas inseminadas pela via transcervical com prévia anestesia epidural com cloridrato de lidocaína a 2% com vasoconstritor) e G3 (06 fêmeas que foram cobertas pelo macho). Todas as ovelhas foram submetidas a tratamento hormonal para indução e sincronização do estro. Não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) entre o tempo médio gasto para realizar os procedimentos de inseminação artificial transcervical em fêmeas ovinas da raça Santa Inês,  $9,9 \pm 5,45$  e  $9,1 \pm 1,67$  minutos para G1 e G2, respectivamente. Aproximadamente 75,8 e 58,3% das inseminações foram intra-uterina ou cervical profunda para os grupos G1 e G2, respectivamente. Foram observadas taxas de gestação de 75 e 83,3% para os grupos G1 e G2, respectivamente ( $p > 0,05$ ). A técnica de inseminação artificial transcervical utilizando sêmen fresco apresenta bons índices gestacionais, porém a utilização prévia de anestesia epidural com lidocaína 2% não amplifica a penetrabilidade cervical e, como consequência, a taxa de gestação.

**Palavras-chave:** inseminação artificial transcervical, ovinos, penetrabilidade cervical

### SUMMARY

The present study aimed to evaluate the effect of epidural anesthesia associated to the technique of transcervical artificial insemination using fresh semen, on subsequent fertility of heat synchronized female sheep. Thirty multiparous and ovulocyclic Santa Ines ewes were randomly divided into three groups: G1 (12 females inseminated via transcervical without previous epidural anesthesia), G2 (12 females inseminated via transcervical with previous epidural anesthesia with 2% lidocaine with vasoconstrictor) and G3 (six females mated by the male). All animals received hormonal treatment for estrous induction and synchronization. There was no difference ( $p > 0.05$ ) between the average time expended to carry the procedures of transcervical artificial insemination in female sheep, being  $9.9 \pm 5.45$  and  $9.1 \pm 1.67$  minutes for G1 and G2, respectively. Approximately 75.0% and 58.3% of the inseminations were intrauterine or deep cervical for the G1 and G2 groups, respectively. Gestation rates of 75% and 83.3% for the groups G1 and G2 were observed, respectively ( $p > 0.05$ ). Transcervical artificial insemination technique using fresh semen presents good gestation rates but the previous use of epidural anesthesia with 2% lidocaine do not amplify cervical penetration and, as consequence, the gestation rate.

**Keywords:** cervical penetration, sheep, transcervical artificial insemination

## INTRODUÇÃO

No Brasil, as raças ovinas apresentam elevado potencial fisiológico para a produção de carne e, no caso de raças deslanadas, para a de pele de elevada qualidade. O relativo curto período de gestação (150 dias), associado à prolificidade e ao fato de que, na região Nordeste, ovelhas deslanadas são poliéstricas contínuas e os carneiros produzem sêmen de boa qualidade durante todo o ano, favorece a obtenção de elevada eficiência produtiva e reprodutiva (BARROS et al., 2005).

Desta forma, objetivando melhorar cada vez mais o desenvolvimento do setor, empresas e entidades científicas apostam nas técnicas de inseminação artificial para aprimorar a genética e o desempenho dos rebanhos; com isso, destaca-se a inseminação artificial transcervical em ovinos, por ser uma técnica muito mais acessível aos criadores das diferentes classes sociais e com índices reprodutivos elevados. Contudo, esta técnica de inseminação apresenta algumas limitações, em razão de a passagem do aplicador pela cérvix ser seu principal entrave.

Algumas substâncias têm sido utilizadas com o objetivo de provocar o relaxamento da cérvix ovina, como os hormônios relaxina e ocitocina, as prostaglandinas, as interleucinas e a cocaína. Segundo Evans & Maxwell (1990), resultados desanimadores têm sido obtidos com a aplicação de relaxina ou cocaína para dilatar a cérvix de ovinos. Já a ocitocina parece estar envolvida diretamente no amolecimento da cérvix, apesar de o exato mecanismo de sua ação não estar claro (SAYRE & LEWIS, 1996, 1997). Por outro lado, Sayre & Lewis (1996) constataram que a dilatação cervical provocada pela ocitocina aumentou a profundidade de

penetração cervical em ovelhas após sua aplicação endovenosa.

A anestesia peridural consiste na aplicação de anestésicos locais no espaço peridural que compreende a porção entre a dura-máter e o canal vertebral. Esta técnica promove o bloqueio nervoso total ou parcial e visa o controle segmentar da dor. Como descrito por Skarda (1996), as principais indicações para a anestesia peridural, em medicina veterinária, são os procedimentos cirúrgicos da região caudal, como membros pélvicos, cauda, períneo e pelve.

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da anestesia epidural com lidocaína a 2%, associada à técnica de inseminação artificial transcervical, sobre a taxa de gestação em fêmeas ovinas com estro sincronizado.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda São Marcos, no município de Jeremoabo, sertão baiano (10°04'29" S, 38° 21'02" W e 275,1442 m de altitude), no período de novembro de 2007 a janeiro de 2008. O clima da região (vegetação caatinga) é classificado como seco, onde se registram temperatura média anual de 24°C e precipitação média anual de 654 mm (máxima 2.273 mm, mínima 276 mm). Foram utilizadas 30 ovelhas múltiparas, cíclicas, da raça Santa Inês, com escore corporal de 1,5 a 2,5 (escala de 0 a 5, em que 0 = muito magra e 5 = muito gorda), mantidas em sistema semi-extensivo. Os animais receberam dieta à base de vegetação nativa da caatinga e palma e suplementação com 0,5 kg de ração/animal/dia (70% milho, 25% soja e 5% trigo) e cevada, além de sal mineral à vontade.

As fêmeas foram divididas aleatoriamente em três grupos: G1 (12 fêmeas inseminadas pela via transcervical, sem realização prévia de anestesia epidural com lidocaína), G2 (12 fêmeas inseminadas pela via transcervical, com prévia anestesia epidural com cloridrato de lidocaína a 2% com vasoconstritor - Laboratório Bravet Ltda) e G3 (seis fêmeas que foram cobertas pelo macho).

As ovelhas dos três grupos foram submetidas a um protocolo de indução e sincronização de estro, por meio de tratamento hormonal. O protocolo de indução de estro envolveu inicialmente a colocação de implante vaginal (Progespon<sup>®</sup> - Laboratório Syntex SA) impregnado com acetato de medroxiprogesterona (60 mg, sintético da progesterona), que permaneceu nas fêmeas por sete dias. Dois dias antes da retirada da esponja, foram administrados, por via intramuscular, 200 UI de um sintético de gonadotrofina coriônica equina (eCG; Novormon<sup>®</sup> - Laboratório Syntex SA) e 0,5 mL de um sintético da prostaglandina F<sub>2α</sub> (Sincrocio<sup>®</sup> - Laboratório Ouro Fino S.A). Todos os grupos receberam o mesmo tratamento hormonal, de modo que o grupo G3 (controle) foi submetido à monta natural e os demais, inseminados pela via transcervical em tempo fixo, 48 ± 2 h após a retirada da esponja.

Para a inseminação artificial e monta natural, foi utilizado um macho adulto da raça Santa Inês, clinicamente saudável e de fertilidade comprovada pelo histórico reprodutivo e pelo exame andrológico realizado previamente ao início do experimento. As coletas de sêmen foram realizadas pelo método da vagina artificial, com água aquecida entre 42 e 44°C, utilizando-se, como manequim, uma fêmea em estro induzido, pela aplicação de 1,0 mg de benzoato de estradiol. O ejaculado foi

coletado em tubos graduados, protegidos da luz solar com papel laminado e acondicionados em isopor, a fim de manter a temperatura do recipiente em 37°C durante a coleta. O sêmen coletado foi mantido em banho-maria a 37°C, quando se realizou o exame físico e morfológico do ejaculado (volume, aspecto, turbilhonamento, vigor, motilidade espermática progressiva, concentração e morfologia espermática), tal como preconizado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA (1998).

Após o exame do ejaculado, o sêmen foi diluído com diluente à base de tris-citrato-gema de ovo (ROBERTS, 1986), sem glicerol, para obtenção da concentração final de 200 x 10<sup>6</sup> espermatozóides por dose inseminante. Em seguida, o sêmen foi envasado em palhetas de 0,25 mL para posterior inseminação.

A injeção de cloridrato de lidocaína a 2%, utilizada no G2, foi realizada no canal epidural. Para a inseminação artificial, as fêmeas foram colocadas numa posição em que os membros posteriores ficaram mais elevados e mantidos nessa posição com o auxílio de um cavalete. Em seguida, foi localizada a cérvix com o auxílio de um espéculo tubular e fonte de luz. Após sua visualização, a mesma foi pinçada com o auxílio de duas pinças de Allis e tracionada até que ocorresse parte de sua exteriorização. Para ultrapassar os anéis cervicais foi utilizado expansor/aplicador próprio, adaptado especialmente para ovinos. Após a inseminação, foi realizada uma leve massagem no clitóris das fêmeas.

A taxa de gestação entre tratamentos (G1 e G2) após a inseminação artificial transcervical e dentro de cada sítio de deposição de sêmen entre os tratamentos foram analisados como um grupo de dados pelo teste qui-quadrado,

a 5% de significância. Os tempos gastos para a realização dos procedimentos de inseminação artificial foram analisados pelo procedimento ANOVA do SAEG 9.0 (RIBEIRO JÚNIOR, 2001), com nível de probabilidade de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as fêmeas do tratamento G3 ficaram gestantes (100%), resultado que demonstra ausência de efeito do protocolo de manipulação do ciclo estral utilizado sobre a taxa de gestação das fêmeas experimentais, bem como a inexistência de outros fatores além dos procedimentos utilizados.

O tempo médio gasto para realizar os procedimentos de inseminação artificial transcervical em fêmeas ovinas da raça Santa Inês foi utilizado como critério para avaliar o efeito da anestesia epidural, que foi de  $9,9 \pm 5,45$  e  $9,1 \pm 1,67$  minutos para G1 e G2, respectivamente ( $p > 0,05$ ), ou média de  $9,5 \pm 3,96$  minutos (Tabela 1). Não foi verificado efeito da utilização da anestesia epidural sobre o tempo gasto para realizar o procedimento de inseminação, nem interação entre os diferentes tratamentos e o local de deposição do sêmen sobre o tempo gasto para realização do procedimento de inseminação.

Tabela 1. Tempo gasto para realização do procedimento de inseminação artificial (IA) transcervical e número de gestação em função dos diferentes grupos (G1 e G2)

Tratamento	Nº de inseminações	Tempo (min)	Nº gestações (%)
G1 (IA sem anestesia)	12	$9,9 \pm 5,45$	9 (75%)
G2 (IA com anestesia)	12	$9,1 \pm 1,67$	10 (83,3%)

Não houve diferença entre os tratamentos ( $P > 0,05$ )

Com relação ao total de inseminações em função do sítio de deposição do sêmen, não foram verificadas diferenças ( $p > 0,05$ ) entre G1 e G2. De modo geral, aproximadamente 75,0 e 58,3% das inseminações foram intra-uterina ou cervical profunda para os grupos G1 e G2, respectivamente. Devonish et al. (2008) avaliaram o efeito da aplicação da ocitocina, antes da inseminação artificial, sobre a penetrabilidade cervical e obtiveram valores inferiores ao deste experimento, com relação à passagem da pipeta através da cérvix nos animais do grupo controle (20% *versus* 33,3%). Contudo, os valores obtidos neste trabalho foram inferiores aos observados por Halbert et al.

(1990), que obtiveram 82% de penetração uterina com inseminação transcervical em ovinos, sem aplicação de agentes dilatadores. Por outro lado, em G1 e G2 as porcentagens de penetração uterina deste trabalho foram superiores aos dados de Rabassa et al. (2007), que obtiveram 10% de penetração uterina.

Já para os animais tratados com ocitocina antes da inseminação artificial, Devonish et al. (2008) obtiveram 100% das inseminações realizadas no útero, sendo superiores aos valores observados neste experimento.

Conforme Kershaw et al. (2005), a anatomia da cérvix de fêmeas ovinas é

altamente variável entre os animais e pode explicar as diferentes taxas de sucesso de penetração durante a técnica de inseminação artificial transcervical, independentemente do grupo experimental. No estudo citado, a máxima profundidade de penetração cervical diferiu entre fêmeas adultas que estavam ciclando e fêmeas em anestro fisiológico. A fase do ciclo estral também influenciou a penetrabilidade da cérvix, sendo maior quando as fêmeas estavam na fase estrogênica e menor quando estavam na fase luteal. A idade é outro fator que pode influenciar a penetrabilidade cervical em ovelhas. Windsor (1995) obteve taxa de penetração cervical de 21,1% em ovelhas com 3 anos e 41,2% em ovelhas com 4 anos de idade, trabalhando fora da estação de monta e de 79,3% e 83,3% para ovelhas de 3 e 4 anos, respectivamente, trabalhando durante a estação de monta.

Foram observadas taxas de gestação de 75,0 e 83,3% para os grupos G1 e G2, respectivamente não havendo diferença estatística ( $p > 0,05$ ). As maiores taxas de gestação observadas neste trabalho decorreram provavelmente do fato de ter sido utilizado sêmen fresco diluído (SALAMON & MAXWELL, 1995). Eppleston e Maxwell (1993) verificaram fertilidade variando de 40 - 60% em ovelhas inseminadas cervicalmente com sêmen fresco, enquanto no estudo de Rabassa et al. (2007) foi observado taxa de gestação de 40,0% utilizando sêmen congelado-descongelado. Corroborando, Machado et al. (2006) também verificaram taxa de gestação inferiores (35,71%) após inseminação artificial cervical com sêmen congelado-descongelado. Os mesmos autores citaram que a fertilidade após a inseminação cervical pode ser influenciada pelo local de deposição do sêmen no interior do trato

genital feminino, aumentando a taxa de fertilidade à medida que a profundidade da inseminação é aumentada, podendo a fertilidade variar de 25,3% para inseminação cervical rasa à 70,3% para a inseminação cervical profunda (EPPLESTON E MAXWELL, 1993).

A taxa de gestação do G1 foi superior à observada por Devonish et al. (2008), de 53% para o grupo controle. Contudo, foram similares aos do grupo tratado com ocitocina (73%). Por outro lado, Stellflug et al. (2001) observaram redução da taxa de gestação para animais tratados com ocitocina e inseminados via transcervical (59% *versus* 47%;  $p < 0,05$ ). A administração de ocitocina algumas horas antes da inseminação artificial, permite que a cérvix seja transpassada pelo aplicador de inseminação e que o sêmen seja depositado no útero, havendo em contrapartida uma redução drástica na fertilidade devido a contrações tetânicas do útero, cuja duração é função da dose administrada (SAYRE E LEWIS, 1996; 1997).

A utilização prévia de anestesia epidural com lidocaína a 2% não amplificou a penetrabilidade cervical e, como consequência, a taxa de gestação também não sofreu alteração. Contudo, as taxas de gestação utilizando a técnica de inseminação artificial transcervical com sêmen fresco foram satisfatórias.

## REFERÊNCIAS

BARROS, N.N.; CAVALCANTE, A.C.R.; VIEIRA, L.S. **Boas práticas na produção de caprinos e ovinos de corte**. Sobral: EMBRAPA Caprinos, 2005. 40p. (Documentos, 57). [ Links ].

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL - CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2 ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p. [ Links ].

DEVONISH, E.; ROBERTS, C.; HUNTE, M.; THOMAS, G. **Use of exogenous oxytocin in non-surgical artificial insemination of the barbados Blackbelly sheep**.

Disponível em:

<<http://agriculture.gov.bb/files/sheep%20ai.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2008. [ Links ].

EPPLESTON, J.; MAXWELL, W. M. C. Recent attempts to improve the fertility of frozen ram semen inseminated into the cervix. **Wool Technology of Sheep Breed**.v.3, p.291-302, 1993. [ Links ].

EVANS, G.; MAXWELL, C. **'Salamon's artificial insemination of sheep and goats**. London: Butterworth Press & Co Ltd, 1990. 38p. [ Links ].

HALBERT, G.W.; DOBSON, H.; WALTON, J.S.; BUCKRELL, B.C. A technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. **Theriogenology**, v.33, n.5, p.993-1010, 1990. [ Links ].

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.5, p.1225-1235, 2005. [ Links ].

MACHADO, V. P.; NUNES, J. F.; ARAÚJO, A. A.; FERNANDÉZ, D. R. P.; CORDEIRO, M. A.; MEDEIROS, C. H. N.; MEDEIROS, A. L. N. MONTEIRO, A. W. U. Fertilidade após a inseminação artificial intracervical ou laparoscópica intra-uterina de ovelhas utilizando diluidores à base de água de coco. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.43, p.43-49, 2006. [ Links ].

RABASSA, V.R.; TABELÃO, V.C.; PFEIFER, L.F.M.; SCHNEIDER, A.; ZIGUER, E.A.; SCHOSSLER, E.; SEVERO, N.C.; DEL PINO, F.A.B.; CORRÊA, M. N. Efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo-fixo. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.1, p.127-133, 2007. [ Links ].

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG (Software Analysis and Experimentation Group)**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 301p. [ Links ].

ROBERTS, S. J. **Veterinary obstetrics and genital diseases (Theriogenology)**. 3.ed. Michigan: Edwards Brothers, 1986. 981p. [ Links ].

SALAMON, S.; MAXWELL, W.M.C. Frozen storage of ram semen II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. **Animal Reproduction Science**, v.38, p.1-36, 1995. [ Links ].

SAYRE, B.L.; LEWIS, G.S. Cervical dilatation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewe. **Theriogenology**, v.45, p.1523-33, 1996. [ Links ].

SAYRE, B.L.; LEWIS, G.S. Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopic or transcervical intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes. **Theriogenology**, v.48, p.267-75, 1997. [ Links ].

SKARDA, R.T.; MUIR III, W.W. Analgesic, hemodynamic, and respiratory effects of caudal epidurally administered xylazine hydrochloride solution in mares. **American Journal of Veterinary Research**, v.57, n.2, p.193-200, 1996. [ Links ].

STELLFLUG, J.; WULSTER-RADCLIFFE, M.; HENSLEY, E.; COWARDIN, E.; SEALS, R.; LEWIS, G. Oxytocin-induced cervical dilation and cervical manipulation in sheep: effects on laparoscopic artificial insemination. **Journal of Animal Science**, v.79, p.568-73, 2001. [ Links ].

WINDSOR, D. P. Factors influencing the success of transcervical insemination in Merino ewes. **Theriogenology**, v. 43, p. 1009-1 018, 1995. [ Links ].

Data de recebimento: 13/10/2008

Data de aprovação: 10/12/2008