

Efeito do Número de Inseminações Artificiais por Ciclo sobre a Fertilidade de Éguas Inseminadas com Sêmen Eqüino Diluído, Resfriado a 20°C e Transportado

Marcos Chalhoub Coelho Lima¹, José Monteiro da Silva Filho², Giovanni Ribeiro de Carvalho³, Maristela Silveira Palhares², Guilherme Ribeiro Valle², Henrique Nunes Oliveira⁴

RESUMO - Cento e vinte ciclos estrais de cento e cinco fêmeas eqüinas da raça Mangalarga Marchador foram analisados com o objetivo de estudar o efeito do número de inseminações artificiais por ciclo sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen resfriado. Os ciclos foram acompanhados por palpação retal e rufiação, e as inseminações realizadas a cada 48 horas, a partir de um folículo de 30-35 mm de diâmetro até a ovulação, com sêmen diluído, resfriado a 20°C e transportado. As éguas foram aleatoriamente distribuídas nos seguintes grupos: T1 - uma IA/ciclo, T2 - duas IA/ciclo e T3 - três ou mais IA/ciclo. As taxas de concepção ao primeiro ciclo foram, respectivamente, para T1, T2 e T3, de 47,83% (11/23), 70,00% (21/30) e 45,16% (14/31) e, após cinco ciclos, de 51,43% (18/35), 48,89% (22/45), e 47,50% (19/40) ($P>0,05$). O número de IA/ciclo não teve efeito sobre a fertilidade das éguas.

Palavras-chave: eqüino, fertilidade, número de inseminações

Effect of the Number of Insemination per Cycle on Fertility of Inseminated Mares with Diluted Equine Semen, Cooled to 20°C and Transported

ABSTRACT - One hundred and twenty estrus cycles of 105 Mangalarga Marchador breed mares were analyzed to study the effect of number of inseminations per cycle on the fertility of mares inseminated with cooled semen. The mares were randomly allocated in the following group: T1 - one AI/cycle; T2 - two AI/cycle; T3 - tree or more AI/cycle. The cycles were controlled by rectal palpation and teasing. The insemination were made at each 48 hours, from a 30-35 mm follicle diameter until ovulation, with diluted, cooled (20°C) and transported equine semen. The conception rates in the first cycle were, respectively, to T1, T2 and T3, 47.83% (11/23), 70.00% (21/30), and 45.16% (14/31) ($P>0,05$), and after five cycles were 51.43% (18/35), 48.89% (22/45) and 47.50% (19/40) ($P>0,05$). The number of AI/cycle had no effect fertility in mares.

Key Words: equine, fertility, number of insemination

Introdução

A preocupação dos criadores de eqüinos em relação ao número de inseminações artificiais sobre a fertilidade das éguas tem origem no conceito de CASLIK (1937) de que, quanto maior o número de intervenções uterinas na égua, maior a possibilidade de infecção. No entanto, VOSS et al. (1982) constataram que várias inseminações artificiais por ciclo não resultaram em contaminação do útero. Assim, a utilização de técnicas de controle microbiológico do sêmen podem eliminar a taxa de contaminação uterina (PICKETT et al, 1987).

A partir da década de 80, trabalhos voltados para a avaliação do comportamento sexual de eqüinos sob condições naturais forneceram mais subsídios para a

discussão do assunto. Na natureza, as éguas são cobertas repetidas vezes durante o ciclo estral (GINTHER, 1983; GINTHER et al., 1983) e, mesmo assim, a monta natural a campo tem se mostrado eficiente, como observado por BRISTOL (1982), cujo estudo obteve taxa de concepção ao primeiro ciclo de 85%, em 20 éguas cobertas, em média 4,6 vezes por ciclo.

Estudos utilizando uma única inseminação artificial por ciclo com sêmen fresco em eqüinos (BURWASH et al., 1974; VOSS et al., 1982; e PICKETT et al., 1987) e sêmen resfriado em asininos (FERREIRA, 1993) resultaram em fertilidade mais baixa que aquela com maior número de inseminações. CARVALHO (1994) e SILVA FILHO (1994), trabalhando com sêmen fresco de garanhões da raça

¹ Professor da Escola de Veterinária da UFBA.

² Professor da Escola de Veterinária da UFMG.

³ Professor do Departamento de Zootecnia da UFV. E.mail: giovanni@mail.ufv.br

⁴ Professor da UNESP Botucatu - SP.

Mangalarga Marchador, não verificaram diferença na fertilidade entre os grupos com diferentes números de IA/ciclo; o mesmo resultado foi obtido por CARVALHO (1994) e VALLE (1997), ao utilizarem sêmen resfriado.

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito do número de inseminações artificiais por ciclo sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino diluído, resfriado a 20°C e transportado.

Material e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido em dois haras (1 e 2), distantes 15 km um do outro, durante uma estação de monta. Cento e vinte ciclos estrais de éguas da raça Mangalarga Marchador foram utilizados, sendo as éguas inseminadas com o sêmen de apenas um garanhão, da mesma raça e reconhecida fertilidade em anos anteriores, pertencente ao haras 1. Para a diluição do sêmen, utilizou-se o diluidor de lactose gema de ovo (NAGASE e NIWA, 1964), modificado por SILVA FILHO et al. (1987). Após a diluição o sêmen foi resfriado a 20°C e transportado para o haras 2 no container MSP-2, desenvolvido por SILVA FILHO et al. (1991) para possibilitar o resfriamento gradual do sêmen durante o transporte.

As éguas foram examinadas, por meio de palpação retal e rufiação individual, diariamente a partir detecção de um folículo com 25 a 30 mm de diâmetro em um dos ovários, até a ovulação. Para as inseminações, utilizou-se volumes variados de sêmen, uma vez que os ejaculados foram diluídos a 1:1 e fracionados, no momento das inseminações, segundo o número de éguas a serem inseminadas em cada dia. As inseminações foram realizadas por via intravaginal profunda, a cada 48 horas, a partir da detecção de um folículo de 30 a 35 mm de diâmetro em um dos ovários, até a ovulação. Os diagnósticos de gestação foram realizados por palpação retal, a partir do 17º dia após a ovulação.

O sêmen foi coletado no haras 1, em dias alternados, segundo a técnica descrita por PICKETT et al. (1987), e a avaliação dos ejaculados foi realizada segundo FONSECA et al. (1992). Aproximadamente 10 minutos após a coleta, o ejaculado foi diluído na proporção de 1:1 em diluidor à temperatura de 37°C e acondicionado em mamadeiras plásticas de 50 mL, que foram introduzidas no container MSP-2 para o resfriamento e posterior transporte (CARVALHO et al., 1997). Foram registrados ainda os seguintes parâmetros: a temperatura da água do container no

momento de seu fechamento no haras 1 e à abertura no haras 2, a temperatura do sêmen à abertura do container no haras 2 e o tempo de transporte do sêmen, compreendido entre o fechamento e abertura do container.

Para a análise do efeito do número de inseminações sobre a fertilidade, agruparam-se os dados segundo o número de inseminações realizadas em cada ciclo: T1 - apenas uma inseminação (n=35 ciclos), T2 - duas inseminações (n=45 ciclos) e T3 - três ou mais inseminações (n=35 ciclos). O número de inseminações de cada ciclo foi consequência direta da duração do cio da égua, o que resultou em número de repetições diferentes para cada grupo.

Os números de ciclos/prenhez e prenhez/ciclo foram analisados pelo teste do qui-quadrado e as taxas de concepção foram submetidas à análise de variância e teste “t” de Student (SAMPAIO, 1998), adotando-se o sistema de pontos utilizado por VOSS et al. (1975), segundo o qual as éguas que conceberam no primeiro ciclo receberam 10 pontos; no segundo ciclo, 8 pontos; no terceiro ciclo, 6 pontos; no quarto ciclo, 4 pontos; no quinto ciclo, 2 pontos; e zero pontos para aquelas que não conceberam. Após a adoção dos pontos, foram obtidas médias denominadas de eficiência de prenhez. As variáveis ciclos/égua, ciclos/égua gestante, número de IA/ciclo, número de IA/ciclo gestante, número de IA/ciclo vazio, volume de sêmen/dose inseminante, número total de espermatozoides/dose inseminante e tempo médio da colheita à IA foram também avaliadas pela análise de variância e teste “t” de Student (SAMPAIO, 1998).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, observando-se que as taxas de concepção ao primeiro ciclo, concepção por ciclo após três ciclos, ciclos/égua, ciclos/égua prenhe, ciclos/prenhez, prenhez/ciclo e eficiência de prenhez não foram diferentes entre os grupos experimentais ($P < 0,05$). Outros itens apresentados na Tabela 2, como volume de sêmen, volume total inseminante, número de espermatozoides viáveis por dose inseminante e tempo médio da colheita à IA, também foram semelhantes entre os grupos ($P > 0,05$), demonstrando, assim, a similaridade das condições experimentais entre os diversos grupos, à exceção da diferença ($P < 0,05$) do volume do diluidor entre os tratamentos de uma IA e três ou mais IA em relação ao grupo de duas IA, sendo menor no último. Tal diferença no volume de

diluidor entre tratamentos foi devido exclusivamente à casualidade, e, uma vez que a taxa de diluição do sêmen foi sempre de 1:1, não houve disparidade nas condições de preservação espermática entre os grupos experimentais.

As taxas de concepção ao primeiro ciclo e concepção/ciclo, obtidas no presente trabalho, não demonstraram diferença entre os grupos experimentais ($P>0,05$). Tais resultados vão de encontro aos obtidos com sêmen a fresco, como os de BURWASH et al. (1974) e VOSS et al. (1982), que observaram diferença entre grupos com diferentes números de IA/ciclo. No entanto, considerando o nível de significância de 5%, apenas a taxa de concepção/ciclo obtida por VOSS et al. (1982) foi melhor para 12 ou mais IA/ciclo, sendo as demais taxas de concepção obtidas na-

queles dois trabalhos avaliadas a 10% de significância. Já VALLE (1997), utilizando sêmen resfriado, não obteve diferença quanto à taxa de concepção ao primeiro ciclo e concepção/ciclo entre grupos com diferentes números de IA/ciclo, em concordância com este estudo.

Tais resultados indicam, provavelmente, que, na presença de ciclos regulares com duração normal e inseminações com grande número de espermatozoides viáveis, como no presente experimento, o número de inseminações não tem influência sobre a fertilidade, mesmo quando realizadas com sêmen diluído, resfriado a 20°C e transportado. Portanto, a afirmação feita por alguns autores, como PICKETT et al. (1987), de que inseminações múltiplas diminuem a fertilidade da égua não parece adequada, não sendo confirmada no presente trabalho.

Tabela 1 - Taxa de concepção por ciclo estral de éguas inseminadas com diferentes números de inseminações, com sêmen eqüino diluído, resfriado a 20°C e transportado

Table 1 - Conception rates from mares inseminated with diluted equine semen, cooled (20°C) and transported with different number of inseminations per oestrus cycle

Ciclo Cycle	Tratamento Treatment					
	Uma IA ^a One AI ^a		Duas IA Two AI		Três ou mais IA Three or more AI	
	Número de ciclos Number of cycles	Concepção (%) Conception (%)	Número de ciclos Number of cycles	Concepção (%) Conception (%)	Número de ciclos Number of cycles	Concepção (%) Conception (%)
1	23(11) ^b	47,83	30(21)	70,00	31(14)	45,16
2	11(6)	54,55	8(0)	0,00	5(2)	40,00
3	-	-	6(1)	16,67	4(3)	75,00
4	-	-	1(0)	0,00	-	-
5	1(1)	100,00	-	-	-	-
Total	35(18)	51,43	45(22)	48,89	40(19)	47,50

^a Refere-se ao número de inseminações realizadas em um mesmo ciclo.

^b Números entre parênteses referem-se às éguas gestantes.

^a Refer to the number of artificial inseminations per oestrus cycle.

^b Numbers in parenthesis refer to the pregnant mares.

Tabela 2 - Efeito de diferentes números de inseminações com sêmen diluído, resfriado a 20°C e transportado, sobre diferentes parâmetros reprodutivos

Table 2 - Influence of the different number of inseminations with diluted equine semen, cooled (20°C) and transported, on different reproductive end points

Item End points	Tratamento Treatment		
	Uma IA* One AI*	Duas IA Two AI	Três ou mais IA Three or more AI
Número de éguas Number of mares	32	38	35
Número de ciclos Number of cycles	35	45	40
Ciclos/égua Cycles/mares	1,13±0,33	1,16±0,44	1,14±0,43
Ciclos/égua gestante Cycle/pregnant mares	1,56±0,96	1,09±0,43	1,42±0,77
Ciclos/prenhez Cycle/gestation	1,94 (35/18)	2,05(45/22)	2,11 (40/19)
Prenhez/ciclo Gestation/cycle	0,51	0,49	0,47
Volume de sêmen (mL) Semen volume	8,77±1,92	8,30±2,21	8,92±2,02
Volume do diluidor (mL) Extender volume	9,26±1,36 ^a	8,53±1,90 ^b	9,18±1,68 ^a
Volume inseminante (mL) Inseminant dose	18,03±2,95	16,84±3,90	18,11±3,49
Temperatura da água haras 1°C Water temperature farm 1	26,63±1,94	26,91±1,97	26,78±2,14
Temp. da água haras 2°C Water temperature farm 2	19,61±1,11	19,84±1,27	19,50±0,97
Temperatura sêmen haras 2°C Semen temperature farm 2	19,99±0,98	20,12±1,18	19,92±1,04
Nº sptz viáveis/dose (x10 ⁶) Number viable sptz/dose	321,32±134,39	306,33±127,86	361,17±139,63
Tempo de colheita à IA (min) Interval from semen collection to AI	64,21±13,01	67,64±18,80	66,77±16,35
Taxa de concepção total (%) Total conception rates	56,25 (18/32)	57,89(22/38)	54,29(19/35)
Eficiência de prenhez Pregnancy efficiency	4,57	4,80	4,35

* Refere-se ao número de inseminações realizadas em um mesmo ciclo.

^{a,b} Médias dentro de linhas seguidas por letras diferentes diferem (P<0,05).

* Refer to the number of artificial inseminations per oestrus cycle.

^{a,b} Numbers within rows followed by different letters differ (P<.05).

Conclusões

O uso de sêmen resfriado a 20°C indicou que o número de inseminações por ciclo estral não representa um fator decisivo na taxa de fertilidade de éguas, desde que se utilizem sistemas de manejo reprodutivos adequados.

Referências Bibliográficas

- BRISTOL, F. 1982. Breeding behavior of stallion at pasture with 20 mares in synchronized oestrus. *J. Reprod. Fert.*, 32:71-77. (Suppl.).
- BURWASH, J., PICKETT, B.W., VOSS, J.L. et al. 1974. Relationship of duration of estrus to pregnant rate in normally cycling, nonlactating mares. *J. Anim. Vet. Med. Ass.*, 165(8):714-716.
- CARVALHO, G.R. *Fertilidade do sêmen eqüino diluído, resfriado a 20°C e transportado*. Viçosa, MG: UFV, 1994. 58p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1994.
- CARVALHO, G.R., SILVA FILHO, J.M., FONSECA, F.A. et al. 1997. Fertilidade do sêmen eqüino diluído, resfriado a 20°C e transportado. *R. Bras. Zootec.*, 26(3):473-478.
- CASLICK, E.A. 1937. The vulva and the vulvo-vaginal orifice and its relation to the genital health of the thoroughbred mare. *Cornell Vet.*, 27(2):178-187.
- FERREIRA, M.F.L. *Efeito de diluentes e taxa de resfriamento sobre a motilidade espermática e fertilidade do sêmen de jumento (Equus asinus)*. Belo Horizonte, MG: UFMG, 1993. 67p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, 1993.
- FONSECA, V.O., VALE FILHO, V.R., MIES FILHO, A. et al. 1992. *Procedimentos para o exame andrológico e avaliação do sêmen animal*. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. 79p.

- GINTHER, O.J. 1983. Sexual behavior following introduction of a stallion into a group of mares. *Therionology*, 19(6):877-886.
- GINTHER, O.J., SCRABA, S.T., NUTI, L.C. 1983. Pregnancy rates and sexual behavior under pasture breeding conditions in mares. *Therionology*, 20(3):333-345.
- NAGASE, H., NIWA, T. Deep freezing bull semen in concentrated pellet form. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 5, Trento, 1964. *Proceedings...* Trento, 1964, p.410-415.
- PICKETT, B.W., SQUIRES, E.L., AMANN, R.P. et al. 1987. *Procedures for collection, evaluation and utilization of stallion semen for artificial insemination*. Colorado State University: Anim. Reprod. Laboratory. 125p (Bulletin 3).
- SAMPAIO, I.B.M 1998. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. 221p.
- SILVA FILHO, J.M. *Aspectos do manejo reprodutivo e do sêmen na inseminação artificial de éguas*. Viçosa, MG: UFV, 1994. 497p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1994.
- SILVA FILHO, J.M., PALHARES, M. S., BERGMANN, J.A.G. Inseminação artificial em eqüinos incluindo transporte de sêmen. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7, 1987, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1987, p.78.
- SILVA FILHO, J.M., PALHARES, M.S., FONSECA, F.A. et al. Fertilidade do sêmen eqüino transportado. III. Utilização de um novo procedimento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9, 1991, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1991, p.370.
- VALLE, G.R. *Efeito da rufiação e manipulação do sistema genital e transporte de sêmen, em container "Celle" modificado, na avaliação da técnica de inseminação artificial em eqüinos*. Belo Horizonte, MG: UFMG, 1997. 349p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, 1997.
- VOSS, J.L., PICKETT, B.W., BACK, D.G. et al. 1975. Effect of rectal palpation on pregnancy rate of nonlactating, normally cycling mares. *J. Anim. Sci.*, 41(3):829-834.
- VOSS, J.L., SQUIRES, E.L., PICKETT, B.W. et al. 1982. Effect of number and frequency of inseminations of fertility of mares. *J. Reprod. Fertil.*, 32:53-57. (Suppl.).

Recebido em: 12/09/97

Aceito em: 26/06/00