

**KAREN MARTINS LEÃO**

**TÉCNICAS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL**

**BOTUCATU  
2003**

KAREN MARTINS LEÃO

# **TÉCNICAS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL**

Monografia realizada durante a disciplina Seminários II do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu.

Responsáveis pela disciplina:

Prof<sup>a</sup>. Adj. Dra. Maria Denise Lopes

Prof. Adj. Dr. Sony Dimas Bicudo

BOTUCATU  
2003

## LISTA DE ABREVIATURAS

HCG – gonadotrofina coriônica humana

mL – mililitros (s)

μL – microlitro (s)

eCG – gonadotrofina coriônica eqüina

GnRH – hormônio liberador de gonadotrofinas

PGF<sub>2</sub>α - prostaglandina F 2 alfa

CIDR – Controlled internal drug release dispenser

mg – miligrama (s)

JUT – junção útero tubárica

ng – nanograma (s)

IAIV – inseminação artificial intravaginal

IAIU – inseminação artificial intrauterina

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	4
2. Revisão de Literatura.....	5
2.1 Inseminação Artificial em Eqüinos.....	7
2.2 Inseminação Artificial em Bovinos.....	10
2.3 Inseminação Artificial em Bubalinos.....	12
2.4 Inseminação Artificial em Ovinos.....	14
2.5 Inseminação Artificial em Caprinos.....	17
2.6 Inseminação Artificial em Suínos.....	18
2.7 Inseminação Artificial em Felinos .....	21
2.8 Inseminação Artificial em Caninos.....	23
3. Considerações Finais.....	26
4. Referências Bibliográficas.....	26

## 1. INTRODUÇÃO

A inseminação artificial é a biotécnica da reprodução mais importante e mais utilizada para o melhoramento genético das espécies, devido a poucos machos selecionados produzirem espermatozóides para a inseminação de centenas de fêmeas por ano. Em contraste, poucos produtos podem ser obtidos de cada fêmeas por ano, mesmo com o advento de novas biotécnicas como a transferência de embriões e fertilização *in vitro* (AX et al., 2000).

O primeiro cientista a investigar e realizar inseminação artificial em mamíferos foi Lazzaro Spallanzani em 1780, que inseminou uma cadela, da qual nasceram três filhotes vivos e normais. Alguns anos depois, cientistas russos demonstraram que a fecundação era possível mesmo quando o plasma seminal era substituído por um meio artificial antes da inseminação (MIES FILHO, 1987).

O uso da inseminação artificial acelera o melhoramento genético, viabiliza a obtenção de produtos de reprodutores alojados em outros países ou até mesmo que já morreram, evita a transmissão de doenças venéreas, facilita a realização de testes de progênie além de possibilitar que machos subférteis produzam filhos. Entretanto, para que se obtenha sucesso em programas de inseminação artificial, são necessários alguns cuidados como a utilização de machos de boa qualidade, um bom controle sanitário e mão de obra especializada (MIES FILHO, 1987).

Em bovinos e eqüinos a inseminação artificial é amplamente utilizada e a aplicação desta biotécnica vem crescendo em diversas espécies como suínos, ovinos, caprinos, bubalinos e até mesmo caninos, apresentando resultados satisfatórios. Quando utilizada em animais de produção, a inseminação artificial tem como objetivo o aumento da produtividade por consequência do melhoramento genético, mas a inseminação também pode ser utilizada objetivando a obtenção de DESCENDENTES de animais com incapacidade de realizar cobertura e/ ou com problemas de subfertilidade, como ocorre em humanos e animais de estimação.

Nas espécies que se tem o domínio da técnica de inseminação artificial, como nos bovinos, ela é amplamente utilizada e apresenta BONS resultados. Entretanto, na maioria das outras espécies muito ainda tem que ser estudado para se conseguir

melhores resultados, viabilizando assim a implantação de programas de inseminação artificial.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

Diferente das fêmeas, que liberam poucos ou um oócito a cada ciclo estral, os machos liberam milhões de espermatozóides a cada cópula. O tempo de sobrevivência, tanto do oócito quanto dos espermatozóides, é relativamente curto e a fertilização depende primariamente de um transporte sincronizado de gametas no trato reprodutivo feminino (AX et al., 2000).

Com a monta natural ou inseminação artificial, os espermatozóides tem que migrarem pelo útero até o oviduto, local onde ocorre a fertilização e devido a este fato, é importante que o sêmen apresente boa motilidade, principalmente para passarem pela cérvix e junção útero-tubárica (HUNTER, 1999).

Em ovelhas e vacas cobertas durante o estro, são necessárias de seis a oito horas para que uma quantidade suficiente de espermatozóides alcancem o oviduto uterina e de dez a doze horas para penetrarem na tuba uterina, sendo que nas ovelhas a passagem dos espermatozóides para o interior da tuba é mais rápida quando a monta é realizada próximo ao momento da ovulação (HUNTER & WILMUT, 1982). Em eqüinos, o transporte espermático é completo quatro horas após a inseminação (BRINSKO et al., 1991). Os espermatozóides penetram na tuba uterina de porcas entre 15 e 30 minutos após a inseminação ou monta natural e após uma hora, uma quantidade de espermatozóides suficiente para fertilizar 90% dos oócitos já penetraram na tuba (HUNTER, 1984).

Foi demonstrado que a habilidade dos espermatozóides, provenientes de sêmen congelado, de atingirem o oviduto, particularmente a região da ampola, é menor do que de sêmen fresco e esta dificuldade no transporte espermático do sêmen congelado, pode ser devido à alterações bioquímicas e físicas na célula espermática (BARDER, 1982).

Scott et al. (1995) observaram uma diferença no transporte espermático entre animais férteis e subférteis, mostrando que o transporte e sobrevivência dos

espermatozóides no trato reprodutivo feminino é melhor quando se utiliza sêmen de garanhões férteis do que subférteis e quando se trabalha com éguas sem problemas reprodutivos.

Vários fatores contribuem para um perfeito transporte espermático, incluindo a contração uterina que ocorre no momento da cobertura ou inseminação, devido à presença de prostaglandina no sêmen e a liberação de ocitocina pela hipófise (HUNTER, 1999).

Ao atingirem o oviduto, os espermatozóides interagem com as células epiteliais, formando um reservatório de gametas funcionais na porção caudal do ístimo, onde os espermatozóides que se aderiram ao oviduto reduzem seu metabolismo e mantêm a motilidade e capacidade fertilizante por um tempo mais prolongado (POLLARD et al., 1991).

Hunter et al. (1991) avaliaram a morfologia dos espermatozóides presentes no ístimo, por microscopia eletrônica, e não foi encontrada nenhuma célula com anormalidade morfológica, indicando que ocorre uma seleção de espermatozóides no trato reprodutivo feminino.

O momento da ativação e liberação dos espermatozóides ocorre pouco tempo antes da ovulação e esta importante transferência de informações entre o folículo pré ovulatório e o tecido do ístimo ocorre devido a um mecanismo de contra corrente vascular do pedículo ovariano (STEFANCZYK-KRZYMOWSKA et al., 1994).

Existe entre as espécies uma diferença no local de deposição do sêmen no trato reprodutivo feminino durante a monta natural. Em ovelhas e vacas o pequeno volume de sêmen é ejaculado na porção cranial da vagina e em eqüinos e suínos, que o ejaculado possui um grande volume, a ejaculação é intra-uterina (AX et al., 2000).

O local de deposição do sêmen no momento da inseminação artificial é um fator bastante estudado em todas as espécies, pois é de suma importância para obtenção de bons resultados de fertilidade. Algumas técnicas de inseminação ultrapassam etapas do transporte espermático pelo útero (GINTHER, 1992).

## 2.1 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM EQÜINOS

A maioria das associações de criadores, permitem a utilização da inseminação artificial, para aplicação de sêmen fresco e refrigerado. Entretanto, algumas destas associações não permitem a aplicação de sêmen congelado (SQUIRES et al., 1999).

Para detecção das éguas em cio é necessário a rufiação e quando não é possível executar esta prática, faz-se necessário a realização de uma avaliação ginecológica por palpação retal para identificar a presença ou não de folículos e a consistência do útero, a fim de determinar em que fase do ciclo estral se encontra o animal (BRISKO & VARNER, 1992).

O cio da égua dura de 5 a 7 dias e a ovulação ocorre no final deste período, sendo que a inseminação deve ser realizada o mais próximo possível da ovulação (MIES, 1987). O ideal é que se faça controle folicular com acompanhamento ultrasonográfico em programas de inseminação de eqüinos, a fim de prever a ovulação e decidir o melhor momento para inseminação, limitando assim o número de inseminações (BRISKO & VARNER, 1992).

A inseminação convencional em éguas é por via vaginal, na qual a mão enluvada do inseminador, guia uma pipeta até a passagem da cérvix e o sêmen é depositado no corpo do útero (MIES, 1997).

As inseminações com sêmen fresco e refrigerado, são bastante difundidas e a maioria dos criatórios de eqüinos utiliza destas técnicas, obtendo resultados satisfatórios. Entretanto, a utilização do sêmen congelado ainda é restrita, pois além de exigir um melhor controle do momento da ovulação, os resultados são inferiores aos obtidos com sêmen fresco e refrigerado (SQUIRES et al., 1999).

Quando se utiliza sêmen fresco de garanhões sem problemas reprodutivos, as inseminações podem ser realizadas a cada 48 horas, até a detecção da ovulação com 250 a 500x10<sup>6</sup> espermatozóides viáveis, sendo os resultados semelhantes aos obtidos com a monta natural (BRISKO & VARNER, 1992).

Sabe-se que o momento de se realizar as inseminações com sêmen refrigerado, é mais crítico do que com sêmen fresco. Os melhores resultados com

sêmen refrigerado são obtidos quando as inseminações são realizadas em um intervalo de zero a 24 horas antes da ovulação, com 500 milhões a um bilhão de espermatozoides. As taxas de concepção para os garanhões que possuem boa qualidade de sêmen após 24 horas de refrigeração, é aproximadamente 10% menor do que as taxas obtidas com sêmen fresco (SQUIRES et al., 1999).

A porcentagem de prenhez com a utilização do sêmen congelado é baixa e bastante variada, sendo que esta variação se deve: a diferentes protocolos de congelação; efeito do garanhão; diferença na fertilidade das éguas e diferentes protocolos de inseminação (BRISKO & VARNER, 1992).

Já foi demonstrado que o sêmen congelado eqüino não tem a mesma habilidade de interagir-se com as células epiteliais do oviduto do que o sêmen fresco, mantendo assim, sua viabilidade por um menor tempo (SCOTT, 2000). Indica-se que a inseminação com sêmen congelado, seja realizada de zero a 24 horas antes da ovulação, ou até 6 horas após (SQUIRES et al., 1999)

Para determinar o momento que ocorrerá a ovulação, pode-se induzir a ovulação com a aplicação de hormônios, sendo o hCG o mais indicado. Com a aplicação de 2500 UI de hCG, aproximadamente 80% das éguas ovulam de 36 a 48 horas após a indução (BRISTOL, 1992).

Com o objetivo de melhorar os índices de fertilidade de indivíduos subfêrteis, maximizar o aproveitamento de animais férteis de alto potencial e conseguir melhores resultados com a aplicação do sêmen congelado, alguns autores têm estudado a possibilidade do uso da inseminação histeroscópica em eqüinos, na qual faz-se a deposição do sêmen sobre a junção útero-tubárica com auxílio de um endoscópio. Morris et al. (2000a) obtiveram um índice de prenhez de 60%, inseminando 15 éguas com  $10 \times 10^6$  espermatozoides provenientes de sêmen fresco, os quais foram depositados sobre a papila tubárica com auxílio de um endoscópio. Vazquez et al. (1998), empregando técnica similar, utilizando aproximadamente  $3,8 \times 10^6$  espermatozoides com motilidade progressiva, obtiveram 30% de prenhez.

Buchanan et al. (2000) compararam as taxas de prenhez de grupos de éguas inseminadas com  $500 \times 10^6$  espermatozoides em 20 mL no corpo do útero,  $25 \times 10^6$  em 1,0 mL,  $5 \times 10^6$  em 1,0 mL e  $5 \times 10^6$  em 0,2 mL depositados na ponta do corno por

desvio da pipeta. Os resultados foram respectivamente de 90%, 57%, 30% e 40%, concluindo que a deposição de sêmen no corno uterino, pode maximizar a fertilidade quando utiliza-se um baixo número de espermatozóides em um pequeno volume.

Papa & Dell'Aqua Júnior (2001) avaliaram o efeito do local de deposição do sêmen e a concentração da dose inseminante e obtiveram 20% de prenhez com a deposição de  $50 \times 10^6$  espermatozóides pré ovulação no corpo do útero e nenhuma prenhez com a deposição do mesmo número de gametas na extremidade do corno. Com a deposição de  $150 \times 10^6$  espermatozóides pré e  $150 \times 10^6$  pós ovulação obtiveram 40% de prenhez quando o sêmen foi depositado no corpo do útero e 50% quando o sêmen foi depositado na extremidade do corno, não sendo observada diferença estatística entre os grupos com diferentes locais de deposição do sêmen.

Manning et al. (1998) utilizando a técnica de histeroscopia na tentativa de canulação do oviduto de éguas para deposição do sêmen no interior da tuba uterina, obtiveram 33% de fertilidade inseminando com  $1 \times 10^6$  espermatozóides. Squires et al. (2000) avaliaram o local de deposição do sêmen e o número de espermatozóides utilizados e observaram que a inseminação histeroscópica resultou em uma maior taxa de prenhez com a aplicação de  $5 \times 10^6$  de espermatozóides com motilidade progressiva (50%), do que com o desvio da pipeta para a extremidade do corno uterino (30%).

Morris et al. (2000a) desenvolveram um experimento objetivando avaliar o índice de fertilidade de éguas inseminadas com baixo número de espermatozóides sobre a papila tubárica, por histeroscopia. O sêmen era coletado 4 horas antes da inseminação, diluído e centrifugado em Percoll (45 e 90%) a 200g por 5 minutos. As éguas nos grupos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 foram inseminadas uma vez com respectivamente  $10 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $0,5 \times 10^6$ ,  $0,1 \times 10^6$ ,  $0,001 \times 10^6$  espermatozóides móveis selecionados em Percoll. As taxas de prenhez foram respectivamente de 60%, 75%, 64%, 29%, 22% e 10%, concluindo que a inseminação de éguas com um número reduzido de espermatozóides selecionados em Percoll, pode resultar em altas taxas de fertilidade, e observaram que são necessários pelo menos  $1 \times 10^6$  células para se obter uma taxa de concepção adequada.

Visando comparar os resultados obtidos através da inseminação convencional

e histeroscópica, utilizando um baixo número de espermatozóides, oriundos de sêmen fresco, Leão et al. (2002) desenvolveram um experimento onde os animais foram inseminados com  $10 \times 10^6$  espermatozóides móveis sobre a junção útero-tubárica,  $10 \times 10^6$  espermatozóides móveis no corpo do útero e  $400 \times 10^6$  espermatozóides móveis no corpo do útero e as taxas de prenhez foram de 41,67%, 16,67% e 50% respectivamente, mostrando que a inseminação histeroscópica proporciona bons resultados, mesmo utilizando apenas 2,5% da dose convencional.

A taxa de concepção ao primeiro ciclo de éguas inseminadas com sêmen congelado é de 30 a 60%, quando se faz avaliações ultrasonográficas para controle do desenvolvimento folicular freqüentemente e a inseminação é realizada com um mínimo de  $200 \times 10^6$  espermatozóides móveis, com no máximo 6 horas da ovulação (Squires et al., 2000). Morris et al. (2000b) inseminaram éguas por histeroscopia com baixo número de espermatozóides provenientes de sêmen congelado, sendo a inseminação realizada por tempo fixo após a aplicação de hCG. A aplicação de hCG era realizada nas éguas que apresentavam folículos maiores que 35 mm de diâmetro e fazia-se a inseminação entre 32 e 34 horas após a aplicação de hCG com  $25 \times 10^6$  de espermatozóides móveis provenientes do ejaculado em 500  $\mu$ l,  $5 \times 10^6$  espermatozóides do ejaculado em 100  $\mu$ l,  $300 \times 10^6$  espermatozóides provenientes do epidídimo em 500  $\mu$ l e  $5 \times 10^6$  espermatozóides do epidídimo em 100  $\mu$ l. As taxas de prenhez foram respectivamente de 64%, 79%, 16% e 0%, concluindo que a inseminação histeroscópica com a deposição de 1% da dose convencional para sêmen congelado proveniente do ejaculado de garanhões é eficiente.

## **2.2 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM BOVINOS**

A indústria da inseminação artificial em bovinos existe a mais de 50 anos e é utilizada na maioria dos países, apresentando resultados satisfatórios. Um dos fatores que se deve a grande utilização desta técnica em bovinos, é o bom resultado obtido com o sêmen congelado e facilidade de aplicação desta técnica (THIBIER & GUERIN, 2000).

A observação adequada do estro é de suma importância para se obter boas taxas de concepção em programas de inseminação, que não utilizam de protocolos de inseminação por tempo fixo, que é realizado com a aplicação de hormônios para indução da ovulação (AX et al., 2000).

A ovulação nos bovinos ocorre aproximadamente 30 horas após o início do cio, 24 horas após o pico pré-ovulatório de LH e 12 horas após o final do estro. Uma vez que a inseminação artificial objetiva a fertilização do oócito, é essencial que ela deva ser realizada de maneira a melhor favorecer o seu encontro com os espermatozoides. Um método prático de alcançar o melhor período de se realizar a inseminação, que é a partir da metade final do estro, é utilizando o esquema de Triemberger, no qual as fêmeas que foram observadas em estro pela manhã são inseminadas à tarde e as fêmeas que foram observadas em estro à tarde são inseminadas na manhã do dia seguinte (MIES FILHO, 1987).

A técnica de inseminação é retrovaginal, na qual uma das mãos do inseminador conduz uma pipeta que contém uma palheta de sêmen, que é introduzida na vagina e com a outra mão, que está no reto, o inseminador fixa a cérvix e passa a pipeta pelos anéis cervicais, fazendo a deposição do sêmen no corpo do útero (AX et al., 2000).

Para a inseminação convencional de vacas, em que o sêmen é depositado no corpo do útero, utiliza-se uma palheta de sêmen congelado contendo de  $6$  a  $10 \times 10^6$  espermatozoides móveis (FONSECA et al., 1991)

De acordo com Seidel et al. (2000) a deposição do sêmen mais próximo do sítio de fertilização, em vacas, permitiu a utilização de um número reduzido de espermatozoides sem afetar a fertilidade. Senger et al. (1988) observaram que a taxa de prenhez das vacas inseminadas no corpo do útero foi de 43%, enquanto que nos animais inseminados no corno ipsilateral ao folículo pré-ovulatório a taxa foi de 65%. Entretanto, McKenna et al. (1990) não constataram vantagens em utilizar esta técnica. Hylan et al. (2002) desenvolveram um experimento para avaliar a taxa de fertilização e qualidade dos embriões recuperados de vacas superovuladas inseminadas com sêmen congelado, através da deposição do sêmen próximo ao sítio de fertilização por um guia ultra-sonográfico intravaginal, com um baixo número

de espermatozoides e concluíram que esta técnica não é eficiente para produção de embriões de vacas superovuladas.

López-Gatiús (1995) realizou inseminação intraperitoneal em vacas de leite com problemas de fertilidade, as quais já tinham sido inseminadas no mínimo seis vezes e possuíam mais de 250 dias de paridas e não observaram diferença estatística entre as porcentagens de prenhez da inseminação intraperitoneal (14,6%) e intrauterina (20,6%), utilizando sêmen congelado. A injeção do sêmen na cavidade peritoneal era realizada por perfuração do fornix vaginal, e a deposição era sobre o ovário ipsilateral a ovulação.

Inúmeros tratamentos hormonais para indução da ovulação em bovinos, têm sido estudados nos últimos anos, com objetivo de se realizar a inseminação com tempo fixo (momento pré determinado), sem a necessidade de observação do estro nas vacas (BASTOS et al., 2002). O período para inseminação em relação ao início do estro e ao período de ovulação é um fator que afeta as taxas de concepção, obtidas em qualquer programa de inseminação artificial (WILTBANK, 2000).

Bastos et al. (2002) demonstraram que protocolos de indução da ovulação utilizando progestágenos, benzoato de estradiol, eCG e GnRH aumentaram significativamente a taxa de prenhez de vacas com estresse nutricional.

O protocolo Ovsynch (GnRH no D0, PGF2 $\alpha$  no D7, GnRH no D9 e inseminação 24 horas após a segunda aplicação de GnRH) tem se mostrado eficiente para inseminação com tempo fixo em vacas. Muitos estudos buscam analisar novos métodos de sincronização que utilizam várias combinações de progestágenos, estradiol, GnRH e prostaglandina, pois ainda se desconhece o protocolo ideal para realização da inseminação artificial com tempo fixo (WILTBANK, 2000).

### **2.3 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM BUBALINOS**

A inseminação artificial na espécie bubalina tem demonstrado ser viável e de fundamental importância para melhoria da produtividade do rebanho. Com a adequação do manejo na detecção do estro e na determinação do momento de se

inseminar a fêmea bubalina, o uso da inseminação nesta espécie tem se mostrado tão eficiente quanto nos bovinos (OHASHI, 2001).

Um dos principais problemas para a inseminação artificial em bubalinos é a dificuldade na detecção visual do estro e na determinação do melhor momento para se realizar a inseminação, tendo em vista que o comportamento de estro da búfala é mais discreto que na vaca bovina (SOUSA, et al., 1999).

A búfala apresenta uma grande variabilidade na duração do estro, dificultando a determinação de um horário padronizado para a realização da IA, como se faz em bovinos. Preconiza-se a realização da inseminação da búfala após o término do estro, quando o animal não estiver aceitando mais a monta do rufião, uma vez que a ovulação ocorrerá em média 16 horas após o término do estro (BARILE et al., 2001).

Devido à dificuldade na detecção do estro e momento certo de se realizar a inseminação nas búfalas, algumas técnicas de sincronização da ovulação estão sendo estudadas, para que as inseminações sejam realizadas em momentos pré determinados (SOUSA, et al., 1999).

Baruselli et al. (1999) adaptaram a metodologia ovsynch de sincronização de ovulação em vacas para a espécie bubalina, utilizando GnRH e  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e obtiveram bons resultados. Barile et al. (2001) também obtiveram boa taxa de concepção utilizando um protocolo de sincronização com eCG,  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e progesterona na forma de esponja intravaginal.

Berber et al. (2002) obtiveram uma taxa de concepção de 56,5% quando realizaram uma aplicação de GnRH (D0),  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (D7) e GnRH (D9) e uma taxa de 64,2% com a aplicação de GnRH (D0),  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (D7) e LH (D9). Neste experimento também observaram que em ambos os grupos, as fêmeas múltiparas apresentaram melhores taxas de concepção do que as primíparas.

A inseminação em búfalas é realizada via retrovaginal, pela passagem de uma pipeta através da cérvix, com a deposição do sêmen no corpo do útero, como em bovinos. A novilha bubalina apresenta o diâmetro da cérvix bastante reduzido, o que dificulta a passagem da pipeta durante o ato da inseminação. Devido a este fato, deve-se no início de um programa de inseminação, dar preferência para animais que já pariram por terem a cérvix mais desenvolvida (OHASHI, 2001).

## 2.4 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM OVINOS

Em ovinos existe uma crescente utilização da técnica de inseminação artificial. Entretanto, existem algumas limitações, que dificultam uma maior difusão desta técnica entre os produtores, como por exemplo os baixos índices de fertilidade obtidos com a aplicação do sêmen congelado, utilizando as técnicas de inseminação vaginal e cervical (NAQVI et al., 1998).

A via natural de acesso ao útero, que seria a via transcervical é difícil, devido a cérvix constituir um dos maiores obstáculos à passagem de instrumentos, por ser de difícil dilatação, ter estrutura rígida, ser longa e bastante fechada (CROY et al., 1999).

Para detecção do estro em ovelhas, é necessário a utilização de rufiões. A observação do estro deve ser realizada duas vezes ao dia com intervalo de 12 horas, sendo que a inseminação somente terá sucesso, se for realizada na metade final do estro (AX, 2000). A inseminação deve ser realizada 12 horas após a detecção do estro. As ovelhas que forem observadas em cio pela manhã serão inseminadas à tarde e os animais observados em cio à tarde serão inseminados na manhã seguinte (MIES, 1987).

Podem ser realizadas duas inseminações no mesmo animal, sendo a primeira no momento da detecção do estro e a segunda 12 horas mais tarde, mas de acordo com Mies (1987), os resultados desta metodologia não são superiores ao da inseminação única. Entretanto, Ax (2000) relata que a realização de duas inseminações resulta em uma melhora de 5 a 10% na taxa de concepção.

A sincronização do estro em ovelhas permite um maior aproveitamento destes animais, reduzindo o intervalo entre partos (SOUZA, 2002). Existem dois protocolos de sincronização mais utilizados, sendo a progesterona seguido de uma aplicação de eCG e a aplicação de prostaglandina. O tratamento com progesterona é realizado com implantes intravaginais por 12 a 14 dias, seguido de uma aplicação de eCG para uma maior sincronização e aumento da taxa de ovulação. Hill et al. (1998) obtiveram uma maior taxa de gestação com o uso de esponjas intravaginais contendo fluorogesterona (74,7%) do que medroxiprogesterona (64,6%). O protocolo

de sincronização com prostaglandina depende da presença de um corpo lúteo funcional, podendo ser utilizada somente na estação reprodutiva (AX, 2000).

Godfrey et al. (1999) realizaram três diferentes tipos de sincronização em ovelhas e observaram que todas as ovelhas tratadas com CIDR por 12 dias e 94,4% das ovelhas tratadas com esponja contendo 500 mg de progesterona, apresentaram estro 36 horas após o término do tratamento e apenas 72,2% das ovelhas tratadas com prostaglandina apresentaram estro neste intervalo de tempo.

Com a utilização de rufiões consegue-se realizar uma sincronização natural do estro, pois ferormônios produzidos pelo macho estimulam o início da estação reprodutiva e sincronizam as ovelhas (AX, 2000).

Em ovinos existem diferentes técnicas de inseminação, a mais simples delas é a vaginal, na qual o sêmen é depositado na vagina por uma pipeta. Embora seja uma técnica de fácil aplicação, somente apresenta bons resultados com a utilização de 200 a 400x10<sup>6</sup> espermatozoides oriundos de sêmen fresco, ficando a taxa de concepção entre 40 e 65% (AX, 2000).

Na inseminação cervical as fêmeas são contidas com o posterior elevado e o sêmen é depositado na porção inicial da cérvix, com auxílio de um espécúlo e uma fonte de luz. A taxa de concepção é de 60 a 70% utilizando sêmen fresco ou refrigerado com uma dose inseminante de 100 a 200x10<sup>6</sup> células espermáticas e a aplicação de 450x10<sup>6</sup> espermatozoides oriundos de sêmen congelado pode resultar de 30 a 35 % de taxa de concepção (AX, 2000).

Souza (2000) realizando inseminação cervical com tempo fixo em ovelhas sincronizadas, com aproximadamente 200x10<sup>6</sup> espermatozoides, obteve uma taxa de gestação de 41,9% utilizando sêmen fresco e 21,5% utilizando sêmen refrigerado em Equitainer<sup>®</sup> por 24 horas. Neste mesmo trabalho, quando as inseminações foram realizadas em ovelhas com estro natural, a taxa de concepção com sêmen fresco foi de 78,6% e com sêmen refrigerado de 71,4%, não sendo observada diferença estatística.

Devido à anatomia da cérvix da ovelha, que possui pregas dispostas em diferentes planos e posições (NAQVI et al., 1998), a transposição da cérvix é complicada, dificultando a realização da inseminação transcervical, a qual tenta-se

transpor a cérvix com uma pipeta, para deposição do sêmen no corpo do útero. Esta técnica permite que um menor número de espermatozoides seja utilizado. Com a utilização de sêmen fresco e refrigerado a taxa de concepção é satisfatória, contudo quando se utiliza sêmen congelado esta taxa é de 22 a 51% (AX, 2000).

Campbell et al. (1996) observaram lesões na cérvix de ovelhas, após a tentativa de passagem de pipeta pela mesma. Alguns compostos químicos têm sido utilizados com o objetivo de provocar o relaxamento da cérvix ovina, tais como a relaxina, cocaína, ocitocina, prostaglandinas e interleucinas, para facilitar a passagem da cérvix e realização da inseminação intracervical (SAYRE & LEWIS, 1997). Wulster-Radcliffe & Lewis (2002) desenvolveram uma pipeta para inseminação transcervical, mas não observaram diferença nos resultados obtidos com a pipeta desenvolvida e a tradicionalmente utilizada.

A inseminação laparoscópica é um procedimento cirúrgico, exige a utilização de um laparoscópio e um veterinário bem treinado. Nesta técnica o sêmen é depositado no lúmen dos dois cornos uterino, permitindo assim a utilização de um menor número de espermatozoides. A laparoscopia viabiliza a aplicação do sêmen congelado, apresentando uma taxa de concepção de 65 a 80% (AX, 2000).

Ghalsasi & Nimbkar (1996) obtiveram uma taxa de concepção de 72% utilizando sêmen fresco e inseminação laparoscópica em ovelhas com estro sincronizado, 69% utilizando sêmen fresco e inseminação cervical em estro natural e 83% com monta natural em estro natural.

Devido a ocitocina promover relaxamento cervical Sayre & Lewis (1997) compararam a eficiência da inseminação laparoscópica com a transcervical associada com a aplicação de ocitocina e concluíram que a ocitocina exógena não reduz a taxa de fertilização, mas não melhora os resultados de fertilidade da inseminação transcervical.

Moses et al. (1997) concluíram que a inseminação laparoscópica pode ser empregada em larga escala com sucesso, sem a necessidade de detecção do estro, realizando as inseminações 60 horas após a remoção da esponja contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona, a qual foi mantida por 14 dias e aplicação de 200 UI de eCG.

Novas técnicas de inseminação artificial também têm sido estudadas em ovelhas, visando a obtenção de melhores resultados com a aplicação do sêmen congelado. Pau et al. (2002) compararam a inseminação por laparoscopia com a transcervical, sendo ambas cirúrgicas e concluíram que a eficiência das técnicas foram similares, mas a inseminação transcervical causa menos estresse para o animal.

## **2.5 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CAPRINOS**

Na prática da inseminação artificial caprina, é indispensável que se faça uma precisa identificação do cio e correta aplicação do sêmen. A identificação do estro se baseia na modificação de comportamento do animal e é facilitada pela utilização de um bode vasectomizado (FOOT, 1982).

A duração do cio é de aproximadamente 40 horas e a ovulação ocorre de 30 a 36 horas após o início do cio. Recomenda-se que a inseminação seja realizada no terço final do estro e no caso do sêmen congelado, aconselha-se duas inseminações com intervalo de 12 horas (MIES, 1987). Foot (1982) relata que as cabras devem ser inseminadas 12 horas após o início do cio e deverão ser inseminadas novamente, no dia seguinte se ainda estiverem em cio.

A inseminação artificial nas cabras é realizada pela deposição do sêmen, o mais profundo possível, na cérvix, que mede cerca de 4 cm de comprimento e diferentemente da ovelha, apresenta menor complexidade, assemelhando-se mais com a cérvix de bovino, que contém 4 ou 5 anéis que podem ser passados mediante manobras adequadas (MIES, 1987).

Para a inseminação artificial em caprinos, o sêmen pode ser fresco, refrigerado a 4°C, ou ainda congelado (NUNES, 2001).

A dose de sêmen utilizada em cada inseminação é de aproximadamente  $125 \times 10^6$  espermatozoides em 0,4 a 0,5 mL. Devido as condições próprias do sêmen de caprinos, que é de boa qualidade e possui boa resistência à refrigeração e congelamento, bons resultados de fertilidade são obtidos com a aplicação tanto de sêmen fresco, refrigerado e congelado (MIES, 1987).

Tratamentos hormonais são utilizados em cabras, para indução e sincronização do estro. A utilização de esponja vaginal contendo de 40 a 45 mg de acetato de fluogesterona por 11 dias, com aplicação de 400 a 500 UI de eCG 48 horas antes da retirada da esponja e aplicação de prostaglandina juntamente com o eCG, é um protocolo eficiente para sincronização de estro em cabras (LEBOEUF et al.,1998).

A pseudogestação pode afetar de 3 a 4 % das fêmeas que são tratadas com hormônios para sincronização do estro, sendo esta freqüência bastante variada entre os rebanhos, podendo atingir até 20% das fêmeas em alguns casos. O tratamento com luteolítico tem se mostrado eficiente, revertendo os casos em 94% das vezes (LEBOEUF et al., 1998).

Corteel et al. (1988) inseminaram cabras 45 horas após a remoção da esponja, com  $100 \times 10^6$  espermatozoides oriundos de sêmen congelado em 0,2 mL e conseguiram uma taxa de prenhez de 63%.

## **2.6 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS**

A utilização da inseminação artificial em suínos tem crescido drasticamente nos últimos anos. Estimativas mostram que o aumento da aplicação desta técnica, passou de menos de 5% em 1986, para 30% em 1996 e aproximadamente 50% em 1998, no rebanho mundial. Este aumento se deve ao aumento no número de suínos confinados, cuidados com a introdução de doenças nos rebanhos e interesse na produção de animais geneticamente superiores (LAMBERSON & SAFRANSKI, 2000).

O sucesso dos programas de inseminação em suínos depende de muitos cuidados no manejo, para obtenção de excelentes taxas de concepção e nascimento. Uma das falhas mais cometidas nestes programas é a detecção inadequada do momento da inseminação (LAMBERSON & SAFRANSKI, 2000).

A ovulação em porcas ocorre de 38 a 42 horas após o início do cio e este processo requer 3,8 horas. Indica-se que as inseminações devem ser realizadas no segundo e terceiro dia de cio, a cada 12 horas, nas porcas que apresentarem cio

logo depois da desmama, nas porcas que apresentarem cio no momento usual depois da desmama deve-se inseminar 24 e 36 horas após a detecção e nas porcas que apresentarem o estro tardiamente após a desmama as inseminações deverão ser realizadas logo após a detecção do estro (AX, 2000).

Em um estudo realizado por Soede et al. (1995) observou-se que os resultados de fertilidade foram bons, quando as inseminações foram realizadas dentro de 24 horas antes da ovulação, sendo que os melhores resultados foram de 8 a 12 horas antes. Entretanto, Nissen et al. (1997) observaram que o intervalo entre a inseminação e ovulação pode ser estendido por até 28 horas. Com a aplicação do sêmen congelado, os resultados são melhores quando as inseminações são realizadas de 4 a zero horas antes da ovulação (WABERSKI et al., 1994).

A prática de se usar múltiplas inseminações, com 2,5 a 3,0 bilhões de espermatozoides, é uma estratégia designada para garantir que pelo menos uma inseminação será realizada no momento adequado, resultando em alta fertilidade e ninhadas grandes (KEMP et al., 1998). Embora as múltiplas inseminações serem bem sucedidas, na maioria das vezes, existe relato de que inseminações extras no final do estro, podem causar uma redução no tamanho da ninhada (ROBZEBOOM et al., 1997).

Lamberson & Safranski (2000) compararam o retorno econômico de diferentes manejos de inseminação e observaram que a detecção do estro duas vezes ao dia com a realização das inseminações 12, 24 e 36 horas após a detecção do estro, resultou em melhores resultados.

Em suínos pode-se realizar inseminações transcervicais (pipeta encaixar-se na cérvix) e intrauterina (cirúrgica ou fibroendoscópio), com sêmen fresco, refrigerado e congelado. A taxa de parição é de 70 a 85% para a inseminação transcervical com sêmen fresco e refrigerado e de 40 a 70% com sêmen congelado. Entretanto, com a inseminação intrauterina cirúrgica, tanto com sêmen fresco, refrigerado e congelado, o índice reduz para 30 a 55% (AX, 2000).

A dose inseminante convencional utilizada em suínos é muito elevada, sendo de  $2,0$  a  $3,0 \times 10^9$  espermatozoides móveis, em um volume também elevado (AX, 2000).

Rath et al. (2000) trabalharam com inseminação artificial intrauterina em suínos, com objetivo de se conhecer o número mínimo de espermatozóides que pode ser depositado na ponta do corno uterino, para obtenção de bons índices de fertilidade. As inseminações foram realizadas por via cirúrgica e com concentrações de  $1 \times 10^9$ ,  $2 \times 10^8$ ,  $2 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $2 \times 10^6$  espermatozóides por animal em um volume de 0,5 mL. Não houve diferença nas taxas de fertilização dos quatro primeiros grupos respectivamente, porém uma redução de 50% na taxa de fertilização foi observada com quantidades menores de espermatozóides.

Recentemente foi desenvolvida uma técnica de inseminação não cirúrgica, que permite a deposição de espermatozóides na junção útero tubárica de porcas, com auxílio de uma pipeta de inseminação modificada e um fibroendoscópio flexível, sendo que com esta técnica é possível passar o canal cervical e alcançar a papila entre três e sete minutos em 90% dos animais. Com esta técnica foram realizadas inseminações com doses de 1000, 200 e  $50 \times 10^6$  espermatozóides diluídos em cinco mL e as taxas de prenhez (tamanho das ninhadas) foram respectivamente de 86,6% (9,6), 88,9% (9,75) e 92,3% (9,4), não havendo diferença significativa na percentagem de prenhez e tamanho da ninhada entre as diferentes concentrações de espermatozóides utilizadas. (MARTINEZ et al., 2000).

Roca et al. (2002) avaliaram a eficiência da inseminação com fibroendoscópio flexível, utilizando um baixo número de espermatozóides provenientes de sêmen congelado de suínos e obtiveram uma taxa de prenhez de 70% com 9,2 leitões em média, sendo que no grupo controle, em que foi utilizado sêmen fresco, a taxa de prenhez foi de 84,21% e a média de leitões foi de 9,2, não havendo diferença significativa entre os grupos, mostrando que a deposição do sêmen sobre a junção útero tubárica é eficiente.

Em um estudo realizado por Wolken et al. (2002) observou-se que a deposição de um número reduzido de espermatozóides, na parte distal do corno uterino de porcas, através de pipeta especial, é uma técnica eficiente, pois obtiveram 65,2% e 77,3% de prenhez utilizando  $100 \times 10^6$  e  $500 \times 10^6$  espermatozóides respectivamente. Utilizando uma técnica não cirúrgica de inseminação artificial em suínos, onde o sêmen é depositado na região anterior do corno uterino, Vazquez et

al (2002) verificaram a taxa de prenhez e tamanho da leitegada utilizando sêmen sexado e obtiveram os seguintes resultados, 43,8% de prenhez e 8,2 leitões em média utilizando  $50 \times 10^6$  espermatozoides sexados, 76,2% de prenhez e 9,6 leitões com  $50 \times 10^6$  espermatozoides não sexados, 57,5% de prenhez e 9,1 leitões com  $100 \times 10^6$  espermatozoides sexados e 81,1% de prenhez e 9,4 leitões utilizando  $100 \times 10^6$  espermatozoides não sexados.

## **2.7 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM FELINOS**

A inseminação artificial em gatos domésticos tem sido mais utilizada em pesquisas, nas quais os gatos servem como modelo experimental. As técnicas para inseminação e estocagem de sêmen também podem ser utilizadas para programas de reprodução assistida em gatos. Em muitas raças existe um número limitado de animais em reprodução e este problema é acentuado pelo fato de que muitos machos são castrados, devido ao seu comportamento (FARSTAD, 2000).

Devido à ausência do estímulo da ovulação pela cobertura quando se realiza inseminação artificial em gatas, é necessário que se faça a indução da ovulação, com aplicação de hormônio (hCG) e esta indução hormonal é mais eficiente quando realizada no terceiro dia de cio. A maioria das gatas ovulam de 26 a 29 horas após recebem 100 UI de hCG intramuscular, no terceiro dia de cio (AXNER, 1998).

Tem sido demonstrado que, com a utilização de sêmen fresco, tanto a inseminação vaginal como a intrauterina resultam em gestação. Quando o sêmen é depositado na vagina, no dia da aplicação do hCG e 24 horas depois, a taxa de gestação é maior do que quando apenas uma inseminação é realizada no dia da aplicação do hCG. A inseminação intrauterina (cirúrgica) tem melhores resultados quando realizada de 31 a 50 horas após a administração do hCG, pois a fertilização ocorre depois de 49 horas da indução da ovulação (AXNER, 1998). Na inseminação laparoscópica o sêmen é depositado no terço cranial de cada corno uterino com auxílio de um cateter (FELDMAN & NELSON, 1996).

As gatas domésticas possuem o vestíbulo de 1 a 2 cm de comprimento e uma vagina bem estreita com 2,5 a 3,0 cm de comprimento. Para a inseminação

intravaginal utiliza-se um cateter francês, que é introduzido aproximadamente 4,5 a 5,0 cm na vagina, onde faz-se a deposição do sêmen. Após a inseminação a gata deve ser mantida com os membros posteriores elevados por aproximadamente 10 minutos (WATSON & GLOVER, 1993).

Quando se utiliza sêmen fresco, uma dose inseminante de  $5 \times 10^6$  é suficiente para inseminação intravaginal (AXNER, 1998). Entretanto, a dose inseminante para uma inseminação intravaginal, com sêmen fresco, em gatas para Johnston et al. (2001) é de  $50 \times 10^6$  espermatozoides em um volume de 100  $\mu$ l.

O processo de refrigeração de sêmen de gatos tem se mostrado eficiente. O sêmen diluído em volume igual, com o meio citrato-gema de ovo a 37°C e mantido a 4°C por 3 dias, pode ser utilizado para fertilizar oócitos *in vivo* (JOHNSTON et al., 2001).

Howard et al. (1992) obtiveram uma taxa de gestação de 50% (9/18), com um a quatro filhotes por ninhada, em gatas que foram anestesiadas entre 31 e 50 horas após a administração de hCG e inseminadas por laparoscopia nos cornos uterino com  $6,2 \times 10^6$  espermatozoides oriundos de sêmen fresco. Neste mesmo experimento apenas 14,3% das cadelas inseminadas da mesma forma, após 25 a 33 horas da aplicação de hCG se tornaram gestantes, sugerindo que a anestesia ou laparoscopia comprometem a ovulação.

A taxa de gestação obtida com a aplicação do sêmen congelado, com inseminação vaginal em gatas é de aproximadamente 10% e esta baixa fertilidade pode ser devido a danos no acrossoma, pois o sêmen apresenta boa motilidade após a descongelação (POPE et al., 1991). Com a inseminação intrauterina, por laparoscopia a taxa de concepção é de aproximadamente 50% (HOWARD et al., 1997).

O momento da inseminação e o local de deposição do sêmen são fatores importantes. Da mesma forma que o sêmen fresco, a inseminação intrauterina com sêmen congelado proporciona melhores resultados de prenhez do que a inseminação vaginal (AXNER, 1998).

## 2.8 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CANINOS

A inseminação na espécie canina também pode ser utilizada como uma alternativa para animais impossibilitados de realizar monta natural por problemas anatômicos e comportamentais, bem como para prevenção de transmissão de agentes infecciosos e uso de sêmen refrigerado e congelado (FELDMAN & NELSON, 1996).

A primeira inseminação com sêmen canino refrigerado a 4°C que se obteve sucesso foi realizada em 1954 por Harrop e foi em 1969 que Seager conseguiu a primeira gestação utilizando sêmen congelado em cadelas (SILVA et al., 2001).

A aplicação de sêmen fresco ou refrigerado no momento da inseminação tem apresentado bons resultados, aproximando-se dos índices obtidos com a monta natural. Entretanto, os resultados conseguidos com o uso do sêmen congelado não são muito satisfatórios (LINDE-FORSBERG & FORSBERG, 1989).

Para inseminação artificial intravaginal com sêmen fresco, faz-se necessária a expansão da fração espermática com a adição de líquido prostático ou diluidores, tais como o tris, água de coco, solução de citrato de sódio (2,9%), solução fisiológica de cloreto de sódio e outros (SILVA et al., 2001).

A temperatura de manutenção do sêmen refrigerado varia entre 4 e 5°C (ENGLAND & PONZIO, 1996). Iguer-ouada & Verstegen (2001) conseguiram manter a viabilidade espermática de 13 a 21 dias *in vitro*.

Pinto et al. (1999) compararam a taxa de gestação e tamanho da ninhada de cadelas inseminadas com sêmen fresco e sêmen refrigerado em Equitainner<sup>®</sup> por 24 horas e observaram uma taxa de prenhez e tamanho da ninhada de 94%/ 7.2 com sêmen fresco e 95%/ 7.1 com o sêmen refrigerado.

O sêmen congelado é o que oferece maior flexibilidade de uso, porém é o que sofre as mudanças mais drásticas quanto à sua qualidade após a descongelação (SILVA et al., 2001). As taxas de gestação com sêmen congelado variam muito e ficam abaixo dos resultados obtidos com sêmen fresco. Entretanto, Silva & Verstegen (1995) obtiveram bons resultados realizando inseminação artificial intrauterina em cadelas utilizando sêmen congelado.

Para o sucesso da Inseminação artificial, é imprescindível que se faça o correto acompanhamento do estro da cadela a ser inseminada. A determinação do momento da inseminação é muito importante, principalmente quando se utiliza sêmen refrigerado e congelado, pois a viabilidade espermática é reduzida (SILVA et al., 2001).

O sêmen fresco tem uma viabilidade que pode chegar até 11 dias no trato reprodutivo da cadela, ao passo que o sêmen congelado apresenta uma viabilidade de aproximadamente 24 horas (SILVA et al., 2001). A inseminação artificial intravaginal deve ser realizada num período máximo de até seis dias após o pico de LH, pois Silva & Verstegen (1995) demonstraram que a cérvix da cadela em estro fecha-se, em média, 6,7 dias após este pico. As ovulações parecem ocorrer de 36 a 50 horas após o pico de LH e os oócitos somente estarão maduros (metáfase II) cerca de 2 a 3 dias após as ovulações (CONCANNON, et al., 1989).

Para o acompanhamento da cadela, a forma mais prática e usual é através do seu comportamento sexual associado à citologia vaginal. A inseminação artificial deve ser realizada quando a fêmea está receptiva ao macho e apresenta uma citologia com pelo menos 70% de células superficiais (SILVA et al., 2001). A vaginoscopia também pode ser utilizada para determinar o momento da inseminação, que é quando se observa a mucosa vaginal pálida e pregueada. A dosagem hormonal é a técnica mais eficaz para determinação do momento ótimo para a realização da inseminação, que é quando a progesterona está em torno de 7,5 ng/mL, que corresponde a aproximadamente dois dias após a ovulação (CONCANNON et al., 1989). Outro recurso que tem sido estudado para determinar o momento da inseminação em cadelas é a ultra-sonografia, mas esta técnica não tem se mostrado eficiente (HASE et al., 2000).

Para inseminação artificial via intravaginal (IAIV) pode-se utilizar uma sonda rígida, com a deposição do sêmen ao longo da vagina da cadela ou a sonda de Osiris<sup>®</sup> que é uma sonda flexível, provida de um pequeno balão inflável na sua extremidade cranial, imitando o papel do bulbo cavernoso do pênis, fazendo-se a deposição do sêmen na porção cranial da vagina (SILVA et al., 1996). Quando se utiliza estas sondas, é necessário que a cadela fique com os membros posteriores

elevados durante 15 minutos, visando prevenir o refluxo de sêmen (SILVA et al., 2001). Entretanto, Pinto et al. (1998) observaram que a redução no tempo de elevação dos membros posteriores de 10 para 1 minuto, não comprometeu a fertilidade, nem a prolificidade das cadelas, utilizando sêmen fresco, onde obteve 91% (29/32) de prenhez de média entre os dois grupos e uma ninhada de 7,35 filhotes por gestação.

A inseminação artificial intrauterina (IAIU), onde o sêmen é depositado dentro do útero, é a técnica escolhida em casos particulares, onde a via vaginal poderia comprometer os resultados da inseminação, como por exemplo, na utilização de um sêmen congelado com baixa qualidade pós-descongelamento (SILVA et al., 2001).

A deposição do sêmen dentro do útero pode ser realizada utilizando-se cateter (transcervical), ou laparoscopia (SILVA et al., 1995; LINDE-FORSBERG et al., 1999). A IAIU via laparoscopia tem o inconveniente de ser um procedimento cirúrgico, entretanto a via transcervical é uma técnica difícil de ser executada devido à anatomia particular da cérvix e à presença da prega médio-dorsal da vagina da cadela, requerendo muita prática do inseminador, bem como colaboração por parte da cadela (SILVA et al., 2001).

As IAIV e IAIU apresentam resultados semelhantes quando se utiliza sêmen fresco. Silva et al. (1995) utilizando sêmen fresco em inseminações intrauterinas obtiveram resultados semelhantes à monta natural. Quando se utiliza sêmen congelado os resultados são variados. Linde-Forsberg et al. (1999) compararam a fertilidade da IAIU e IAIV utilizando sêmen congelado e obtiveram uma taxa de gestação / tamanho da ninhada de 84,4% / 5,4 quando realizaram IAIU utilizando cateter transcervical, 57,9% / 6,0 com a IAIU utilizando endoscópio e 58,9% / 4,0 com a IAIV, mostrando que uma boa técnica de congelamento de sêmen associada com a IAIU transcervical (não cirúrgica), pode levar a taxas de gestação e tamanho de ninhadas semelhante as da monta natural.

Uma dose inseminante contendo de 150 a 200x10<sup>6</sup> espermatozoides com duas ou três inseminações proporciona uma taxa de concepção e tamanho de ninhada adequados. O número mínimo de espermatozoides oriundos de sêmen congelado ainda não está bem estabelecido. No entanto, boa fertilidade foi obtida

com doses inseminantes de  $35 \times 10^6$  espermatozóides móveis por IAUI e  $50 \times 10^6$  espermatozóides móveis por IAIV (WILSON, 1993).

### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inseminação artificial é a técnica mais importante para o melhoramento genético dos animais e é a mais utilizada em todas as espécies.

Vários fatores podem contribuir para o sucesso dos programas de inseminação artificial nas diferentes espécies. Os principais fatores que determinam os índices de fertilidade, obtidos com a inseminação artificial são: a fertilidade dos reprodutores, a maneira com que o sêmen é colhido e manipulado, a habilidade do inseminador, o manejo das fêmeas (momento da inseminação), o tipo de sêmen empregado (fresco, refrigerado e congelado), a dose inseminante e a técnica de inseminação empregada.

Mesmo nas espécies que já se consegue resultados semelhantes aos da monta natural com a inseminação artificial, é válido o desenvolvimento de mais pesquisas, com intuito de aprimorar a técnica e facilitar a execução da mesma. Para as espécies que ainda não se tem o domínio desta biotécnica, muitos estudos são necessários com objetivo de se alcançar melhores resultados.

### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AX, R.L., et al. Artificial insemination. In: HAFEZ, E.S.E. & HAFEZ, B. Reproduction in Farm Animals. Seventh edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Chapter 26, 376-389.

AXNER, E. Mating and Artificial insemination in domestic cats. In: SIMPSON, G.M., ENGLAND, G.C.W., HARVEY, M. BSAVA Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology. Hampshire: BSAVA, 1998. Chapter 10, p.105-111.

BARBER, H. An investigation of sperm migration into the oviducts of the mare. *J. Reprod. Fertil.*, v.32, p.59-64, 1982.

BARILE, V.L., et al. Evaluation of different timed inseminations on conception rate synchronised Italian buffaloes. In: VI WORLD BUFFALO CONGRESS, Maracaibo, 2001. *Proceedings...* Maracaibo, 2001. p.172-78

BARUSELLI, P.S., V.H., et al. Dinâmica folicular em búfalas submetidas a sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, v.27, p.210, 1999.

BASTOS, G.M., et al. Induction of ovulation and artificial insemination in postpartum beef cows under nutritional stress. In: 28TH ANNUAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY, 2002, Foz do Iguaçu. *Proceedings...* Foz do Iguaçu, 2002. p.368.

BERBER, R.C.A., MADUREIRA, E.H., BARUSELLI, P.S. Comparison of two Ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, v.57, p.1421-30, 2002.

BRINSKO, S.P., VARNER, D.D. Artificial insemination. In: McKINNON, A.O., VOSS, J.L. Equine Reproduction. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1992. Chapter 84, p.790-797.

BRINSKO, S.P., VARNER, D.D., BLANCHARD, T.L. The effect of uterine lavage performed four h post insemination on pregnancy rate in mares. *Theriogenology*, v.35, p.1111-19, 1991.

BRISTOL, F. Synchronization of ovulation. In: McKINNON, A.O., VOSS, J.L. Equine Reproduction. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1992. Chapter 39, p.348-352.

BUCHANAN, B.R., et al. Insemination of mares with low numbers of either unsexed or sexed spermatozoa. *Theriogenology*, v.53, p.1333-44, 2000.

CAMPBELL, J.W., et al. Transcervical insemination in sheep: an anatomical and histological evaluation. *Theriogenology*, v.45, p.1535-44, 1996.

COCANNON, P.W., McCANN, J.P., TEMPLE, M. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *J. Reprod. Fertil.*, v.39, p.3-25, 1989.

CORTEEL, J.M., LEBOEUF, B., BARIL, G. Artificial breeding of adult goat and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Ruminant Res.*, v.1, p.19-35, 1988.

CROY, B.A., et al. A preliminary study on the usefulness of hull-8 in cervical relaxation of the ewe for artificial insemination and for embryo transfer. *Theriogenology*, v.52, p.271-87, 1999.

ENGLAND, G.C.W., PONZIO, P. Comparison of the quality of frozen-thawed and cooled-rewarmed dog semen. *Theriogenology*, v.46, p.165-171, 1996.

FARSTAD, W. Current state in biotechnology in canine and feline reproduction. *Anim. Reprod. Sci.*, v.60-61, p.375-87, 2000.

- FELDMAN, E.C., NELSON, R.W. Canine and feline endocrinology and reproduction. Second edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996. 785p.
- FONSECA, V.O., et al. Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991. 49p.
- FOOTE, R.H. Inseminação Artificial. In: HAFEZ, E.S.E. Reprodução animal. 6ª edição. São Paulo: Editora Manole, 1982. Capítulo 26, p.601-631.
- GHALSASI, P.M., NIMBKAR, C. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. *Small Ruminant Res.*, v.23, p.69-73, 1996.
- GINTHER, O.J. Reproductive Biology of the Mare. Cross Plains WI: Equiservices, 1992. 470p.
- GODFREY, R.W., et al. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology*, v.51, p.985-97, 1999.
- HASE, M., et al. Plasma LH and progesterone levels before and after ovulation and observation of ovarian follicles by ultrasonographic diagnosis systems in dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, v.62, p.243-48, 2000.
- HILL, J.R., THOMPSON, J.A., PESKINS, N.R. Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28.447 merino ewes under commercial conditions: a survey. *Theriogenology*, v.49, p.697-709, 1998.
- HOWARD, J.G., et al. Sensitivity to exogenous gonadotrophins for ovulation induction and laparoscopic insemination in the cheetah and clouded leopard. *Biol. Reprod.*, v.56, p.1059-1068, 1997.
- HOWARD, J.G., et al. The effect of pre-ovulatory anaesthesia on ovulation in laparoscopically inseminated domestic cats. *J. Reprod. Fertil.*, v.96, p.175-186, 1992.
- HUNTER, R.H.F., WILMUT, I. The rate of functional sperm transport into the oviducts of mated cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v.5, p.167-73, 1982.
- HUNTER, R.H.F. Pre- ovulatory arrest and peri-ovulatory redistribution of competent spermatozoa in the isthmus of the pig oviduct. *J. Reprod. Fertil.*, v.72, p.203-11, 1984.
- HUNTER, R.H.F., FLECHON, B., FLECHON, J.E. Distribution, morphology and epithelial interactions of bovine spermatozoa in the oviduct before and after ovulation: A scanning electron microscope study. *Tissue & Cell*, v.23, p.641-56, 1991.

HUNTER, R.H.F. Factors influencing Sperm Migration in the fallopian tubes. *Reprod. Dom. Anim.*, v.34, p.227-35, 1999.

HYLAN, D., et al. Ultrasound-guided deep uterine insemination (DUI) of superovulated beef cows using low numbers of frozen-thawed spermatozoa. In: 28TH ANNUAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY, 2002, Foz do Iguaçu. *Proceedings...* Foz do Iguaçu, 2002. p.379.

IGUER-OUADA, M., VERSTEGEN, J.P. Long-term preservation of chilled canine semen: effect of commercial and laboratory prepared extenders. *Theriogenology*, v.55, p.671-84, 2001.

JOHNSTON, S.D., KUSTRITZ, M.V.R., OLSON, P.N.S. Canine and Feline Theriogenology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001. 592p.

KEMP, B., STEVERINK, D.W.B., SOEDE, N.M. Herd management in sows: Optimising insemination strategies. *Reprod. Dom. Anim.*, v.33, p.159-64, 1998.

LAMBERSON, W.R., SAFRANSKI, T.J. A model for economic comparison of swine insemination programs. *Theriogenology*, v.54, p.799-808, 2000.

LEÃO, K.M., ALVARENGA, M.A., PUOLLIFILHO, J.N. Hysteroscopic insemination in mares with low sperm number. In: 28TH ANNUAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY, 2002, Foz do Iguaçu. *Proceedings...* Foz do Iguaçu, 2002. p.381.

LEBOEUF, B., et al. Artificial insemination of dairy goats in France. *Liv. Product. Sci.*, v.55, p.193-203, 1998.

LINDE-FORSBERG, C., FORSBERG, M. Fertility in dogs in relation to sêmen quality and the time and site of iseminatio with fresh and frozen semen. *J. Reprod. Fertil.*, v.39, p.299-310, 1989.

LINDE-FORSBERG, C., STRÖM, H.B., GOVETTE, G. Comparison of fertility data from vaginal vs intrauterine insemination of frozen thawed dog semen: a retrospective study. *Theriogenology*, v.52, p.11-23, 1999.

LÓPEZ-GATIOS, F. Intraperitoneal insemination in repeat breeder cows: a preliminary report. *Theriogenology*, v.44, p.153-58, 1995.

MANNING, S.T., et al. Development of histeroscopic insemination of the uterine tube in the mare. In: ANNUAL MEETING OF SOCIETY FOR THERIOGENOLOGY, 1998, Baltimore. *Proceedings...* Baltimore, 1998. p.84-85.

MARTINEZ, E.A., et al. Successful low-dose insemination by a fiberoptic endoscope technique in the sow. In: PROCEEDINGS OF THE ANNUAL CONFERENCE INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY, 2000, Maastricht. *Proceedings...Maastricht*, 2000. p.201.

McKENNA, T., et al. Nonreturn rates of dairy cattle following uterine body or cornual insemination. *J. Dairy Sci.*, v.73, p.1179-83, 1990.

MIES FILHO, A. Inseminação Artificial. 6 a edição. Porto Alegre: Sulina, 1987. 750p.

MORRIS, L.H.A., HUNTER, R.H.F., ALLEN, W.R. Hysteroscopic insemination of small number of spermatozoa at the uterotubal junction of preovulatory mares. *J. Reprod. fertil.*, v.118, p.95-100, 2000a.

MORRIS, L.H.A., et al. Hysteroscopic insemination of mares with low numbers of frozen-thawed ejaculated and epididymal spermatozoa. In: 5th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EQUINE EMBRYO TRANSFER, 2000, Finland. *Proceedings... Finland*, 2000b. p.12.

MOSES, D., et al. A large-scale program in laparoscopic intrauterine insemination with frozen-thawed semen in australian merino sheep in argentine patagonia. *Theriogenology*, v.48, p.651-57, 1997.

NAQVI, S.M.K., et al. Cervical penetration and transcervical AI of tropical sheep (Malprra) at natural oestrus using frozen-thawed semen. Technical note. *Small Ruminant Res.*, v.29, p.329-33, 1998.

NISSEN, A.K., et al. The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows, as investigated by ultrasonography. *Theriogenology*, v.47, p.1571-82, 1997.

NUNES, J.F. Inseminação Artificial em Caprinos. In: GONSALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J.F. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. São Paulo: Varela Editora e Livraria, 2001. Capítulo 7, p.111-125.

OHASHI, O.M. Inseminação Artificial em Bubalinos. In: GONSALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J.F. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. São Paulo: Varela Editora e Livraria, 2001. Capítulo 6, p.97-110.

PAPA, F.O., DELL' AQUA JÚNIOR, J.A. Efeito do tipo de envasamento e método de descongelamento sobre os parâmetros espermáticos e índices de fertilidade de sêmen congelado equino. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.25, p.458-46, 2001.

PAU, S., et al. Direct intrauterine insemination using an innovative approach to overcome the laparoscopic technique in sheep. In: 28TH ANNUAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY, 2002, Foz do Iguaçu. *Proceedings... Foz do Iguaçu*, 2002. p.383.

PINTO, C.R.F., PACCAMONTI, D.L., EILTS, B.E. Fertility in bitches artificially inseminated with extended, chilled semen. *Theriogenology*, v.52, p.609-16, 1999.

PINTO, C.R.F., EILTS, B.E., PACCAMONTI, D.L. The effect of reducing hindquarter elevation time after artificial insemination in bitches. *Theriogenology*, v.50, p.301-5, 1998.

POLLARD, J.W., et al. Fertilizing capacity of bovine sperm may be maintained by binding to oviductal epithelial cells. *Biol. Reprod.*, v.44, p.102-7, 1991.

POPE, C.E., et al. Semen storage in the domestic felid: a comparison of cryopreservation methods and storage temperatures. *Biol. Reprod.*, v.44, p.257, 1991.

RATH, D., KRÜGER, C., JOHNSON, L.A. Deep intra-uterine insemination techniques in pigs. In: 14th INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 2000, Stockholm. *Proceedings...* Stockholm, 2000. p.290.

ROCA, J., et al. Fertility of cryopreserved boar spermatozoa after transcervical deep intrauterine insemination. In: 28TH ANNUAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY, 2002, Foz do Iguaçu. *Proceedings...* Foz do Iguaçu, 2002. p.385.

ROZEBOOM, K.J., et al. Late estrus or metestrus insemination after estrual inseminations decreases farrowing rate and litter size in swine. *J. Anim. Sci.*, v.75, p.2323-27, 1997.

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

SCOTT, M.A., LIU, I.K.M., OVERSTREET, J.W. Sperm transport to the oviducts: Abnormalities and their clinical implications. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTICE, 1995, USA. *Proceedings...* USA, 1995. p.1-2.

SCOTT, M.A. A glimpse at sperm function in vivo: sperm transport and epithelial interaction in the female reproductive tract. *Anim. Reproduc. Sci.*, v.60-61, p.337-48, 2000.

SEIDEL Jr, G.E., SCHENK, J.L., HERICKHOFF, L.A. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology*, v.52, p.1407-20, 2000.

SENGER, P.L., et al. REEVES, J.J. Influence of cornual insemination on conception rates in dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, v.66, p.3010-16, 1988.

SILVA, L.D.M., SILVA, R.A., CARDOSO, R.C.S. Inseminação Artificial em Cães. In: GONSALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J.F. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. São Paulo: Varela Editora e Livraria, 2001. Capítulo 5, p.69-95.

SILVA, L.D.M., et al. Comparison of intravaginal and intrauterine insemination of bitches with fresh or frozen semen. *Vet. Record*, v.138, p.154-57, 1996.

SILVA, L.D.M., VERSTEGEN, J.P. Comparisons between three different extenders for canine intrauterine insemination with frozen thawed spermatozoa. *Theriogenology*, v.44, p.571-79, 1995.

SILVA, L.D.M., et al. Laparoscopic intrauterine insemination in the bitch. *Theriogenology*, v.43, p.615-23, 1995.

SOEDE, N.M., et al. Effect of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows. *J. Reprod. Fertil.*, v.104, p.99-106, 1995.

SOUSA, D.B. Viabilidade do sistema Equitainer<sup>®</sup> na refrigeração do sêmen ovino avaliado pelas análises computadorizada, de microscopia epifluorescente e inseminação artificial. Botucatu, 2002. 104p. Tese (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho.

SOUSA, J.S., et al. Efeito do GnRH na taxa de prenhez em búfalas com cio induzido pela prostaglandina. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.23, p.358-60, 1999.

SQUIRES, E.L., et al. *Cooled and Frozen Stallion Semen*. Fort Collins: Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory, 1999. (Apostila).

SQUIRES, E.L., LINDSEY, A.C., BUCHANAN, B.R. A method to obtain pregnancies in mares using minimal sperm numbers. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTICE, 2000, USA. *Proceedings...* USA, 2000. p.335.

STEFANCZYK-KRZYMOWSKA, S., et al. Local increase in steroid concentration in blood supplying the uterus and oviduct in anaesthetized and conscious gilts. *Anim. Reprod. Sci.*, v.37, p. 35-41, 1994.

THIBIER, M., GUERIN, B. Hygienic aspects of storage and use of semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.*, v.62, p.233-51, 2000.

VAZQUEZ, J.J., et al. Nonsurgical uterotubal insemination in the mare. In: ANNUAL MEETING OF SOCIETY FOR THERIOGENOLOGY, 1998, Baltimore. *Proceedings...* Baltimore, 1998. p.82-3.

VAZQUEZ, J.M., et al. Deep intrauterine insemination in sows with flow cytometric sorted sperm. In: 28TH ANNUAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY, 2002, Foz do Iguaçu. *Proceedings...* Foz do Iguaçu, 2002. p.389.

WABERSKI, D., et al. Effect of time of insemination relative to ovulation on fertility with liquid and frozen boar semen. *Theriogenology*, v.42, p.831-840, 1994.

WATSON, P.F., GLOVER, T.E. Vaginal anatomy of the domestic cat (*Felis catus*) in relation to copulation and artificial insemination. *J. Reprod. Fertil.* (Supplement), v.47, p.355-359, 1993.

WILSON, M.S. Non-surgical intrauterine artificial insemination in bitches using frozen semen. *J. Reprod. Fertil.*, v.47, p.307-11, 1993.

WILTBANK, M.C. Uso eficaz de hormônios de reprodução: II programas de reprodução. In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2000, Passos de Minas. *Anais...* Passos de Minas, 2000. p.71-85.

WOLKEN, A., et al. Sows can successfully be inseminated non-surgically into the distal uterine horn with a highly reduced number of sperm cells. In: 28TH ANNUAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY, 2002, Foz do Iguaçu. *Proceedings...* Foz do Iguaçu, 2002. p.392.

WULSTER-RADCLIFFE, M.C., LEWIS, G.S. Development of a new transcervical artificial insemination method for sheep: effects of a new transcervical artificial insemination catheter and traversing the cervix on semen quality and fertility. *Theriogenology*, v.58, p.1361-71, 2002.