

programs. It was observed 78,6% of pregnancy of control group *versus* 71,4% of group inseminated with chilled semen in Equitainer system. No difference was observed.

Key words: chilled semen, container, artificial insemination

INTRODUÇÃO

Para Colas & Courot (1976), pode-se conservar o sêmen ovino refrigerado e com capacidade fertilizante somente por um período inferior a 24 horas. Maxwell & Watson (1996) citaram a ocorrência da redução da fertilidade com sêmen armazenado por período superior a 24 horas e inseminado via cervical. Avaliações feitas *in vitro* por Paganini Filho et al., (1997) revelaram alta capacidade de manutenção das células espermáticas por até 48 horas de refrigeração a 5°C. Bicudo et al., (2002), com sêmen refrigerado por 24 horas em geladeira a 5°C, verificaram índices de fertilidade de 34,6% para inseminações cervicais com estro induzido contra 53,7% com estro natural. Com o desenvolvimento em larga escala dos programas de Inseminação Artificial (IA), sentiu-se a necessidade de transportar o sêmen do ponto de colheita para o de inseminação (Maxwell & Salamon, 1993). Frente a esta possibilidade, pesquisas foram realizadas com o intuito de melhorar os métodos de transporte e o primeiro sistema desenvolvido foi o Equitainer^{®1} (Katila et al., 1997). Sousa & Bicudo (2002) evidenciaram a eficiência do Equitainer[®] na refrigeração do sêmen ovino por 24 e 48 horas *in vitro*. Frente a isto, objetivou-se verificar *in vivo* o desempenho deste sistema em programa de inseminação artificial (IA) de ovelhas em estro natural alojadas a 50 Km do posto de colheita e processamento do sêmen.

MATERIAL E MÉTODOS

No mês de janeiro de 2002, durante 14 dias, em dias alternados, foram colhidas 21 amostras de sêmen de três carneiros da raça Bergamácia alojados no Laboratório de Estudos em Biotecnologia da Reprodução de Ovinos e Caprinos na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP Botucatu – SP (latitude 22° 53' S). Estas amostras foram diluídas no meio Glicina Gema Leite (Gonzalez et al., 1996) na proporção de 1:4 (volume:volume) obtendo-se sete *pools*. Estes foram acondicionadas em tubos tipo *Eppendorf* de 1,5 mL e armazenados em dois Equitainer[®] (Sousa & Bicudo, 2002), sendo um utilizada para a IA com sêmen a fresco e outro para a inseminação com sêmen refrigerado por 24 horas.

Nas IA foram utilizadas 63 ovelhas das raças Corriedale, Suffolk, Bergamácia, Ideal e seus cruzamentos que apresentavam escore corporal três (0 - 5), pertencentes a uma propriedade localizada a 50 Km do ponto de colheita e processamento do sêmen, no município de Pratânia – São Paulo (latitude 22° 49' S), mantidas a pasto.

Para a detecção do estro foram utilizados sete rufiões vasectomizados que tiveram a região esternal impregnada com pasta oleosa com o pigmento pó Xadrez[®]. As fêmeas foram divididas em dois grupos segundo o dia da colheita e processamento do sêmen e a evidência do estro.

- ✓ **Grupo a fresco** – as ovelhas que estavam marcadas pelo rufião até a manhã do dia da colheita do sêmen foram inseminadas com o sêmen a fresco.
- ✓ **Grupo refrigerado** – as ovelhas que foram marcadas pelo rufião durante o período de 24 horas da refrigeração do sêmen, foram inseminadas com o sêmen refrigerado.

Para a realização das inseminações artificiais cervicais foi utilizada a técnica descrita por Karagiannidis et al. (2001), com auxílio de espéculo tubular² com fonte de luz própria (Mies Filho, 1987) e seringa semi-automática³ para inseminação ovina calibrada para aproximadamente 0,15 mL e dose inseminante de 100 milhões de espermatozoides. As inseminações foram únicas. A avaliação das inseminações foi realizada por meio de diagnóstico de gestação com auxílio de exame ultra-sonográfico⁴ por via transretal aproximadamente 35 dias da última inseminação (Husein et al., 1998). Para as proporções das gestações em ovelhas inseminadas com sêmen a fresco ou refrigerado foi utilizado o teste do qui-quadrado para comparação de proporções em amostras independentes (Zar, 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 - Hamilton-Thorne Research, Beverly, MA, USA

2 Modelo BM – Walmur – RS - Brasil

3 Modelo BM – Walmur – RS - Brasil

4 Pie Medical Equipment B. V. – Scanner 200 - Probe linear de 5 MHz acoplada a extensor – Utrecht, The Netherlands

O diagnóstico de gestação das ovelhas em estro natural inseminadas é apresentado na TAB. 02.

Tabela 02: Proporção de gestação em ovelhas (n=63) em estro natural inseminadas com *pool* de sêmen a fresco ou refrigerado no sistema Equitainer® no meio diluente Glicina Gema Leite (Gonzalez, et al., 1996) após 24 horas.

Gestação/IA %	Modalidade do sêmen	
	Fresco	Refrigerado
	33/42	15/21
	78,6 ^A	71,4 ^A

Proporções seguidas de letras iguais não diferem significativamente no teste do qui-quadrado

($\chi^2 = 0,098$; P = 0,754 NS)

IA – inseminação artificial

Contrariamente ao relatado por Maxwell & Salamon (1993), os resultados de fertilidade não apresentaram diferença significativa (P> 0,05) quanto à modalidade de inseminação utilizada (a fresco *versus* refrigerado). Atribui-se este fato a maior longevidade do sêmen no genital da ovelha proporcionada pelo meio diluente empregado, corroborando com os resultados obtidos *in vitro* por Sousa & Bicudo (2002).

CONCLUSÃO

O Equitainer® mostrou-se um sistema de refrigeração e transporte do sêmen ovino viável de ser empregado em programas comerciais de inseminação artificial, reiterando os resultados verificados *in vitro*. A segurança fornecida pelo Equitainer® poderá garantir melhores resultados de fertilidade com o sêmen ovino refrigerado devido a ser um sistema passivo de refrigeração, não sofrendo influência das oscilações da rede elétrica, da temperatura ambiente, além de apresentar praticidade de transporte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BICUDO, S. D., PAGANINI FILHO, P., SOUZA, M. I. L., SOUSA, D. B. O. Taxa de concepção no estro induzido com CIDR®/eCG e no estro natural pós-sincronização em programa de inseminação artificial de ovelhas. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 26, p. 171-4, 2002.
- COLAS, G., COUROT, M. Storage of ram semen. In: TOMAS, G. J., ROBERTSON, D. E., LIGHTFOOT, R. J. **Sheep breeding. 2 ed.**, London: Butterworths, 1976, p. 521-32.
- GONZALEZ, C. I. M., OBA, E., BICUDO, S. D., SOUZA, M. I. L. Cryopreservation of semen in Ideal rams with glycine-egg yolk-extender. In: International Congress of Animal Reproduction, 13, 1996, Sydney. **Proceedings...**Sidney, 1996. p. 2-9.
- HENRY, M., NEVES, J. P. **Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen Animal**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA, 1996. p.40-5.
- HUSEIN, M. Q., BAILEY, M. T., ABABNEH, M. M., ROMANO, J. E., CRABO, B. G., WHEATON, J. E. Effect of eCG on the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside the breeding season. **Theriogenology**, v. 49, p. 997-1005, 1998.
- KATILA, T., COMBES, G. B., VARNER, D. D., BLANCHARD, T. L. Comparison of three containers used for the transport of cooled stallion semen. **Theriogenology**, v. 48, p. 1085-92, 1997.
- MAXWELL, W. M. C., SALAMON, S. Liquid storage of ram semen: a review. **Reprod. Fertil. Dev.**, v. 5, p. 613-38, 1993.
- MAXWELL, W. M. C., WATSON, P. F. Recent progress in the preservation of ram semen. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 42, p. 55-65, 1996.
- MIES FILHO, A. **Inseminação Artificial**. 6ª ed., Porto Alegre: Sulina, 1987, v.2.
- PAGANINI FILHO, P., BICUDO, S. D., SOUZA, M. I. L., SOUSA, D. B. Viabilidade do sêmen ovino frente a três diluentes em temperatura de 37°C e sob refrigeração. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.21, p.61-2, 1997.
- SOUSA, D. B., BICUDO, S. D. Desempenho do Equitainer® na refrigeração do sêmen ovino. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 26, n. 3, p. 166-8, 2002.
- ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. New Jersey: Prentice Hill, 1996. 718 p.