

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

HÉLIO GARCIA DE DEUS

**TAXAS DE ECLOSÃO E FERTILIZAÇÃO EM GALINHAS CAPIRAS
FERTILIZADAS PELOS MÉTODOS DE MONTA NATURAL E DE INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL**

UBERLÂNDIA – MG

2019

HÉLIO GARCIA DE DEUS

**TAXAS DE ECLOSÃO E FERTILIZAÇÃO EM GALINHAS CAIPIRAS
FERTILIZADAS PELOS MÉTODOS DE MONTA NATURAL E DE INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientadora: Prof^a Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca.

UBERLÂNDIA-MG

2019

HÉLIO GARCIA DE DEUS

**ÍNDICES DE ECLOSÃO E FERTILIDADE EM GALINHAS CAPIRAS
FERTILIZADAS PELOS MÉTODOS MONTA NATURAL E INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Uberlândia, 12 de julho de 2019.

Prof^a Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca
Universidade Federal de Uberlândia – UFU/MG

Prof^o. Dr. José Octávio Jacomini
Universidade Federal de Uberlândia – UFU/MG

Prof^o Dr. Marcelo Emílio Beletti
Universidade Federal de Uberlândia – UFU/MG

Dedico este trabalho aos familiares, amigos e profissionais da Medicina Veterinária que me incentivaram e inspiraram para que pudesse concluir o objetivo de atuar na profissão.

AGRADECIMENTOS

Início estes agradecimentos dizendo: OBRIGADO, DEUS. Foram diversas oportunidades propostas em minha vida e, com as bênçãos DELE, pude saber decidir o caminho que me propiciaria satisfação pessoal e profissional.

Agradeço a UFU, sua docência, direção e administração que oportunizaram concluir eticamente a proposta pretendida pelo curso de Medicina Veterinária; reconhecendo a importância das experiências passadas pelos educadores Prof. Dr. Marcelo Emílio Beletti, indicando o rumo a seguir para conclusão do presente trabalho; Prof. Dr. José Octávio Jacomini, que apresentou de forma satisfatória a rotina do profissional a campo, auxiliando na prática dos serviços a serem executados e a Prof^a Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca que, sem ter o real conhecimento de minha pessoa, aceitou claramente me reger nesta pesquisa, que com muita paciência, manteve-se presente exercendo papel leal de orientadora, sendo aberta às ideias e discussões, transmitindo segurança e tranquilidade.

Aos colegas de estudos, principalmente os “Creolinas”, que fecharam a proposta comum de completarmos juntos este curso, e ao fim nunca esquecer da amizade arquitetada e selada durante estes anos de faculdade.

Agradeço também meus pais, Geraldo Hélio de Deus e Eliana de Cássia Garcia de Deus, meu irmão Héric Garcia de Deus, por serem sempre o apoio ao qual nunca fui negado, mantendo firmeza no real sentido do que é ser família, respeitando limitações e dificuldades, sendo continuamente aconselhores e incentivadores da realização desta conquista.

Agradecimentos imensos à minha queridíssima esposa Rafaela Carvalho Pereira Garcia, por manter-se como a base de nossa família, assumindo a maior parte da responsabilidade de cuidar e educar os nossos pequenos “DUDU”, “LIPE” e “GUIGUI”, até o momento em que eu cumpra completamente o propósito almejado. ” Te amo, meu denço. ”

Enfim, obrigado a todos que contribuíram direta e indiretamente em minha formação.

RESUMO

Objetivou-se com este estudo, avaliar a fertilização de ovos de aves caipiras por meio da biotecnologia de inseminação artificial (IA), comparando com o processo de monta natural (MN). Selecionou-se 40 fêmeas de modo aleatório com idade entre 10 a 18 meses e, 4 piquetes foram utilizados sendo 1 lote de 10 animais em cada. Os grupos foram divididos da seguinte forma: G1 e G2: IA com ejaculado do macho; G3 e G4: MN na presença do macho. Um reprodutor com 18 meses de idade foi escolhido mediante avaliação da aceitação de manejo da coleta do sêmen somado a qualidade e viabilidade espermática. O mesmo, foi separado para jejum sexual de 24h antes da coleta do sêmen. O sêmen foi coletado, diluído e colocado no órgão reprodutor da galinha mediante manobras de eversão da cloaca. A IA foi realizada em dias diferentes entre os grupos G1 e G2, sendo repetido 8 dias após a primeira. Já para os grupos G3 e G4 esperou-se que o galo tenha realizado a monta natural, enquanto presente em cada lote, em dias alternados (dia sim, dia não) somando 3 dias em atividades em cada grupo. Os ovos postos pelas aves até o quinto dia posterior as ações, foram incubados em chocadeiras, separados em ovos após primeira IA e MN e ovos após a segunda IA e MN. A partir da contagem de eclosão dos pintos, fez-se também avaliação dos ovos não eclodidos mediante análise de embriodiagnóstico e infertilidade. Os resultados obtidos ao final de todo o processo nos grupos G1 e G2 foi de 52,7% de ovos inférteis, 47,3% fertilizados e destes 77,2% eclodiram e 22,8% tiveram morte embrionária precoce. Nos grupos G3 e G4 observou-se que 39,2% dos ovos não foram fertilizados, 60,8% estavam férteis, sendo que destes 82,2% eclodiram e 17,8% tiveram morte embrionária precoce. Não houve diferença estatística entre a fertilização e eclosão entre os grupos avaliados. A similaridade de resultados entre IA e MN mostra que em casos onde é necessário uso de reprodutores de alto valor zootécnico ou o cruzamento de machos grandes e fêmeas menores a MN pode ser substituída pela IA sem prejuízo nos índices de eclosão e fertilização.

Palavras-chave: Galo. Incubação. Reprodutor. Sêmen.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the fertilization of eggs of wild birds by means of artificial insemination (AI) biotechnology, comparing with the natural mating process (MN). 40 randomly selected females aged 10 to 18 months were selected, and 4 pickets were used with 1 batch of 10 animals each. The groups were divided as follows: G1 and G2: AI with male ejaculate; G3 and G4: MN in the presence of the male. An 18-month-old breeder was chosen by evaluating the acceptance of semen collection management added to sperm quality and viability. The same was separated for 24-hour sexual fasting before semen collection. The semen was collected, diluted and placed in the reproductive organ of the hen by maneuvers of eversion of the cloaca. AI was performed on different days between groups G1 and G2, and repeated 8 days after the first. For groups G3 and G4 it was expected that the rooster performed the natural mating, while present in each batch, on alternate days (yes, no), adding 3 days to activities in each group. The eggs laid by the birds until the fifth day after the actions were incubated in incubators, separated in eggs after the first IA and MN and eggs after the second IA and MN. From the hatching count of the chicks, non-hatched eggs were also evaluated through embryodiagnostic and infertility analysis. The results obtained at the end of the whole process in groups G1 and G2 were 52.7% of infertile eggs, 47.3% fertilized and 77.2% of them hatched and 22.8% had early embryonic death. In the G3 and G4 groups, 39.2% of the eggs were not fertilized, 60.8% were fertile, 82.2% of which hatched and 17.8% had early embryonic death. There was no statistical difference between fertilization and hatching between the groups evaluated. The similarity of results between AI and MN shows that in cases where it is necessary to use breeding herds of high zootechnical value or the crossing of large and minor males to MN can be substituted by AI without prejudice to the rates of hatching and fertilization.

Key words: Incubation. Reproducer. Rooster. Semen.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IA Inseminação artificial

MN Monta natural

G1 Grupo um

G2 Grupo dois

G3 Grupo três

G4 Grupo quatro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1	Anatomia do órgão reprodutor masculino da ave	9
2.2	Anatomia do órgão reprodutor feminino da ave	10
2.3	Biotecnologia aplicada a avicultura	11
2.4	Coleta de sêmen.....	11
2.5	Preparo do sêmen.....	12
2.6	Inseminação artificial em galinhas	12
2.7	Armazenagem dos ovos	13
2.8	Incubação dos ovos	13
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	17
5	CONCLUSÃO	20
	REFERÊNCIAS.....	22

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa uma posição de destaque na produção de carne de frango na da avicultura industrial sendo o maior exportador e segundo maior produtor, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (EUA). Sendo assim esta atividade tem grande importância nos números do Produto Interno Bruto (PIB) do país (ABPA 2018). Portanto, é necessária eficiência nos processos da produtividade para manter-se como modelo ativo no setor. Os investimentos em biotecnologias reprodutivas, somados aos manejos sanitários e nutricionais, contribuem positivamente nos métodos produtivos extraindo resultados satisfatórios na atividade (BONGALHADO, 2013; DUARTE *et al.*, 2015).

Mesmo com todo sucesso da avicultura industrial, ainda há espaço para a produção de aves ditas caipiras. Esse tipo de criação atende um nicho específico de mercado consumidor, que ainda possui antigos costumes alimentares com preferências por carne e ovos de aves criadas em um método menos intensivo considerando o conceito de bem-estar do produto ofertado (ALBINO *et al.*, 2005).

Por ser um animal que retrata elevada rusticidade, as galinhas caipiras oferecem um desempenho considerável, representando um acréscimo no faturamento de pequenas propriedades com mão de obra geralmente familiar (BARBOSA *et al.*, 2004).

Há deficiência nas informações na área de pesquisas no segmento de produção caipira. Contudo, guardadas as particularidades de cada setor, os criadores de aves caipira podem espelhar-se no uso de técnicas já praticadas em granjas avícolas industriais favorecendo a evolução dos métodos atualmente utilizados na “criação caipira”, tendo por consequência um desenvolvimento econômico e produção mais eficiente.

Pretendendo bons resultados reprodutivos a Inseminação Artificial (IA) foi a primeira biotecnologia a ser praticada em animais de produção, sendo mais utilizada em mamíferos, tendo uma fácil aceitação dos produtores e impulsionando o desenvolvimento de outras novas técnicas como sexagem de espermatozoides, transferência de embrião, dentre outras (FOOTE, 2002).

A busca crescente de aves caipiras com valor genético melhorado, incentiva produtores a investir num padrão racial que traga maior ganho de carne mantendo a rusticidade da linhagem. Logo, há uma introdução de reprodutores da raça Índio Gigante em plantéis de criação de linhagens caipiras tradicionais. Machos de grande porte com tamanhos acima de 1 metro de altura, peso aproximado de até 8 quilos, além de valores genéticos expressivos também

movimentam financeiramente o mercado com preços a partir de R\$2 mil dependendo do padrão procurado (SNA, 2017).

A introdução de um reprodutor com peso e tamanho descritos acima, a um plantel de fêmeas de porte menor, tem como consequência a dificuldade do acasalamento natural, devido à discrepância de medidas, pois a galinha tem que sustentar o próprio peso e suportar o peso do macho no momento da cópula. Um macho ativo sexualmente, corteja as fêmeas independente de seus tamanhos, porém tem a dificuldade de monta-las causando nas mesmas, feridas no dorso por arranhar com as unhas ou até mesmo problemas na coluna vertebral por não aguentarem o excesso de peso. Com isso as matrizes que antes estavam ativas para reprodução, têm o processo interrompido temporariamente ou até mesmo ficam inviáveis para compor o grupo reprodutor.

Por vezes, a IA apesar de exigir qualificação em mão-de-obra e infraestrutura para índices consideráveis, propicia benefícios que valorizam a atividade, como a rastreabilidade de acasalamento, maior proporção de galinhas para cada galo (KARAUAT,2016) e principalmente o melhoramento genético dos animais mediante objetivos e aplicações definidas pelo criatório.

Na avicultura industrial a técnica de IA é uma ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva objetivando o melhoramento genético, e é difundida na criação de perus, porém na criação de galinhas reprodutoras não é amplamente utilizada, pois ainda não representa uma viabilidade econômica comprovada. Embora não haja dados na literatura, os trabalhos de extensão e os atendimentos no Hospital Veterinário desenvolvidos pela orientadora e o autor deste trabalho mostra que a produção caipira utilizando machos de alta performance já é uma realidade em muitas granjas avícolas, porém ainda não se sabe da viabilidade do uso de IA na criação caipira.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a viabilidade da substituição da MN pela IA em lotes de galinhas caipiras para auxiliar o desenvolvimento tecnológico do setor.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia do órgão reprodutor masculino da ave

Nas aves, os testículos têm localização anatômica dentro da cavidade abdominal, diferentemente dos mamíferos que apresentam um saco externo. O trato reprodutivo apresenta-se ao longo da parede dorsal do corpo, sendo os testículos aderidos ao corpo pelo mesórquio, onde cada um possui túbulos seminíferos anastomosados agregados a um tecido intersticial envolto por cápsula de tecido conjuntivo. O epitélio é dividido em compartimento basal e

adluminal por junções entre as células de Sertoli. Os túbulos seminíferos se ligam aos canais deferentes, que compreendem rede testicular, ductos eferentes proximais, ducto eferente distal, ductos de conexão, ducto epididimário (KIRBY, 1998).

Ainda há dúvidas sobre a espermatogênese, se ocorre em temperatura corporal (41-43°C), considerada alta para o processo, se há resfriamento do órgão pelos sacos aéreos abdominais os quais cercam os testículos em suas extremidades craniais, se o mesmo ocorre no período da noite onde tem-se menor temperatura corporal ou se essas possibilidades atuam ligadas (LEITE, 2009).

A estocagem do sêmen no macho se dá no receptáculo do ducto deferente antes da ejaculação. Essa porção difere das outras por ser mais reta e ampla quando próxima da cloaca, terminando dentro da mesma como uma papila. As papilas são pequenas projeções na parede lateral da cloaca. Um corpo vascular paraclonal é associado ao receptáculo (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

Fujihara (1992) revisa que as estruturas acessória respondem pelo tecido conjuntivo rico em vasos linfáticos tumescente acompanhando a excitação sexual. A linfa se forma pelo filtrado sanguíneo arterial dentro dos corpos paraclonais, possibilitando a eversão dos grupos opostos de tecidos linfáticos tumescentes na abertura, o falo. A ejaculação se dá por contração dos músculos lisos internos dos receptáculos seguidos da eversão do falo.

2.2 Anatomia do órgão reprodutor feminino da ave

O ovário e oviduto direito sofrem regressão na fase embrionária da ave, portanto o órgão reprodutor da galinha contém somente oviduto e ovário esquerdos. O ovário expressa inúmeros folículos de variados tamanhos, porém os pequenos sofrem regressão para que o maior, dito dominante, conclua seu desenvolvimento. O intervalo entre ovulações tem em média 25 (vinte e cinco) horas, ocorrendo por um período de até 15 (quinze) dias consecutivos, sendo este conhecido como ciclo ovulatório. Estes ciclos se repetem indefinidamente podendo ter intervalos de um ou mais dias, em ocasiões de falha na ovulação, não havendo postura no dia posterior, iniciando assim um novo ciclo. O primeiro ovo do ciclo costuma ser colocado ao amanhecer, e os próximos são postos sucessivamente, sendo que o último ovo desta fase é colocado entre 6 a 8 horas após amanhecer (RUTZ *et al.*, 1996).

O oviduto é dividido em: infundíbulo, parte mais próxima ao ovário que captura o óvulo após a liberação e também o local onde ocorre a fecundação; magno, encarregado de secretar o

albúmen, e compreende a porção mais longa do oviduto; istmo, é a região mais curta, onde se forma as membranas da casca; glândula da casca (útero), órgão muscular e secretório, o qual acrescenta fluido ao ovo e acontece a formação da casca e deposição da cutícula; e vagina, que é a passagem do ovo do útero até a cloaca. Na porção útero-vaginal estão as glândulas armazenadoras de espermatozoides, atuantes na capacitação espermática auxiliando nas próximas fecundações. Após maturação dos gametas masculinos, estes deslocam-se ascendentemente para o infundíbulo (BAKST *et al.*, 1994).

2.3 Biotecnologia aplicada a avicultura

A biotecnologia da reprodução com maior uso na avicultura é a Inseminação Artificial, contribuindo para um controle reprodutivo, e auxiliando o melhoramento genético das linhagens (LEITE, 2009).

A aplicação da I.A. em relação a MN traz como vantagens: não ocorrência de acasalamento preferencial; reprodução de linhagens de monta dificultada; utilização de menor número de machos; elevado número de descendentes melhorados geneticamente; maior eficiência na fertilização por uso de menor concentração de células espermáticas que na monta natural; possível aumento da capacidade produtiva das instalações. Ao contrário tem as desvantagens de investimento inicial em equipamentos e treinamentos, demanda e custo de mão-de-obra especializada (LEITE, 2009).

2.4 Coleta de sêmen

Coletar o sêmen para utilizá-lo em IA é uma manobra fácil, porém é preciso cuidados na manipulação do galo evitando estresses que interfiram na aquisição do ejaculado (LEITE, 2009).

Indica-se para execução da coleta dois operadores dos quais um faz a contenção e massageia o animal e o outro realiza as demais manobras de coleta, onde inicia-se contendo adequadamente o reprodutor aparando ou arrancando as penas em torno da cloaca, manejo dito toalete. Logo após faz-se uma massagem no dorso do mesmo passando a mão paralelamente a coluna vertebral, com cuidadosa pressão, percorrendo a base da asa até a inserção da cauda pressionando a região lateral da cloaca (LEITE, 2009).

Observando a ereção do falo pode-se massagear o abdômen no mesmo sentido da massagem dorsal e, logo após, faz-se uma suave pressão com nas bordas laterais da cloaca e simultaneamente uma massagem pericloacal. Ocorrendo a ereção, após cada massageamento, surgirá grandes gotas que serão imediatamente coletadas, apresentando-se de coloração branca e aspecto leitoso. É importante evitar a contaminação por fezes (LEITE, 2009).

2.5 Preparo do sêmen

Com o objetivo de fertilizar um maior número de galinhas com um mesmo ejaculado, pode-se diluir o sêmen coletado em uma solução Ringer modificado, sendo composto por 68gramas de Cloreto de Sódio, 17,33gramas de Cloreto de Potássio, 6,42gramas de Cloreto de Cálcio, 2,5gramas de Sulfato de Magnésio, 24,5gramas de Bicarbonato de Sódio e 10 Litros de água destilada (MARTIN,2003).

Indica-se a diluição conforme a concentração de espermatozoides presentes no ejaculado para que se tenha uma quantidade de células suficientes (100 milhões de células) para cada dose a ser inseminada. Pode-se diluir o sêmen numa proporção de 1:2, e assim tem-se a capacidade de usar um macho para 30 fêmeas, diferentemente da MN onde um macho cobre em média 10 fêmeas. Atenta-se ao tempo para uso do sêmen coletado e diluído o mais rápido possível, sendo aceito até uma hora para sêmen fresco e vinte e quatro horas para sêmen resfriado (MCDANIEL, 2002).

2.6 Inseminação artificial em galinhas

O processo consiste em conter a galinha contra o corpo do operador e a cabeça para baixo. Posiciona-se os dedos polegar e indicador acima e abaixo da cloaca respectivamente fazendo a eversão da mesma sendo auxiliada por leve pressão do animal contra o corpo do inseminador (LEITE, 2009).

Evertida a cloaca, introduz-se na mesma o tubo inseminador, que pode ser uma seringa com prolongamento ou um tubo conectado a uma pera de borracha até que sinta uma resistência, assim deposita-se o sêmen aliviando em seguida a pressão na cloaca para que retorne à posição normal (LEITE, 2009).

2.7 Armazenagem dos ovos

O tempo para armazenamento dos ovos selecionados para chocagem influencia na formação do embrião, eclodibilidade, mortalidade pós-eclosão, qualidade do produto, no caso o pinto, e o desempenho zootécnico, fatores que interferem negativamente na performance desejada (MACARI, 2013).

Há variações relacionadas à genética comparando-se linhagens e raças, porém o armazenamento por tempo prolongado retarda o processo de eclosão. Entende-se que a cada dia armazenado, acresce uma hora ao período de incubação, considerando ainda que, embriões fracos necessitam de um maior tempo para início do desenvolvimento, podendo haver um atraso no mesmo (REIJRINK *et al.*, 2008).

Incubar os ovos imediatamente após a postura, também afeta índices de eclosão, aconselhando-se um armazenamento de até 48 horas, buscando alcançar uma alteração favorável de pH do albúmen para o desenvolvimento ideal do embrião (MACARI, 2013).

É também considerada uma grande preocupação a temperatura de armazenagem, que interfere no processo embrionário. Busca-se para manter a dormência do embrião atingir o chamado “zero fisiológico”, que a campo compreende a temperaturas de 20 a 25°C para ovos que tenham até 4 (quatro) dias de armazenagem. Acima de 4 (quatro) dias até 7 (sete) dias sugere-se temperatura de 16-17°C, e de 10-12 °C para ovos maiores que 7 (sete) dias (MACARI, 2013).

Quanto a umidade, o manejo de armazenagem pretende impedir que ovo perca água em excesso. Então, indica-se um ambiente fechado, com pouca ventilação, proporcionando que a água evaporada dos ovos se mantenha no recinto, obtendo assim uma elevação na umidade relativa, minimizando efeitos desfavoráveis ao embrião (MACARI, 2013).

2.8 Incubação dos ovos

O início da incubação apresenta extrema importância para o sucesso do embrião e é neste momento que inicia o desenvolvimento do embrião seguido das membranas e compartimentos que o preservam. Nestes primeiros dias toda sequência para o desenvolvimento embrionário acontece, processo considerado rápido, portanto qualquer fator que apresente complicações, pode tornar incapaz a formação do produto (MACARI, 2013).

As chocadeiras comerciais indicadas para incubação de menor volume de ovos, assim como também a maioria das incubadoras, apresentam limitações para aquecimento e umidade

dos ovos. Necessitam aquecer o ar internamente, deslocando-o por meio de ventilação forçada por todo o ambiente para que assim o ar aqueça os ovos. Pretende-se nessas máquinas uma temperatura variando de 37,5 a 38°C e umidade relativa de 55%, com viragem dos ovos a cada uma ou duas horas. Temperatura elevada apressa o desenvolvimento e temperatura baixa retarda o mesmo. A viragem é importante para não deixar que o embrião grude na casca favorecendo o crescimento ideal das membranas e mantendo equilíbrio dos fluidos que proporcionam a oferta de nutrientes no albúmen para o embrião (MACARI, 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado entre os dias 15 de abril de 2019 até 28 de maio de 2019 na cidade de Uberlândia, mais especificamente no setor de chácaras, localizada no município, com altitude média de 887 metros, 18° 55' 18.9'' de latitude sul e 48° 19' 09.9'' de longitude oeste. A região apresenta clima tropical, caracterizado por invernos secos e verões quentes e chuvosos (classificação Koppen). Embora o método seja usado na rotina de procedimentos zootécnicos, o projeto foi enviado para apreciação da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia que aprovou o projeto com o número de protocolo 099/18.

Foram selecionados 4 (quatro) reprodutores machos com idade reprodutiva, variando entre 18 a 30 meses, de linhagem caipira, nascidos na propriedade e peso aproximados de 4 (quatro) a 6 (seis) quilos, criados livres com outros animais machos e fêmeas de mesma espécie e alimentados com grãos triturado de milho, soja e sorgo além de grama e pequenos insetos existentes no local.

Pela avaliação da aceitação e habilidade de manejo para coleta do ejaculado, (consentimento da massagem dorsal, e resposta ao estímulo – exposição do falo), selecionou-se 2 (dois) dos quatro galos existentes inicialmente para o experimento. Os machos selecionados eram os mais novos e (18 e 24 meses), sendo que após avaliação do volume do ejaculado, qualidade e viabilidade espermática (motilidade, vigor, concentração e anormalidades) fora classificado para uso, apenas 1(um) galo, o mais novo, para tal pesquisa. No macho selecionado, as análises citadas anteriormente foram realizadas no início da atividade sendo novamente feitas ao término da mesma conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1. Avaliação das características de volume, concentração morfologia, motilidade e vigor de ejaculado do galo.

Macho selecionado 18 meses	
Exposição do falo após massagem dorsal	Presente
Volume ejaculado* (mL)	0,6
Motilidade (%)	80%
Vigor	4
Concentração (cels. viáveis/mL)	7,0x10 ⁸ (4,2x10 ⁸ em 0,6mL)
Patologias**	10%

* Cálculo após um jejum sexual de 24 horas; cels: células; ** Patologias referentes a morfologia.

Um total de 40 fêmeas foram separadas de modo aleatório em um plantel representado por aproximadamente 200 animais. Foram atraídas para as baias/piquetes de modo que as primeiras 10 galinhas que entrassem em cada um destes, eram as matrizes selecionadas para contribuição na pesquisa. As fêmeas selecionadas apresentavam peso aproximado de 3,5kg, idade variando entre 10 a 18 (dezoito) meses e linhagem caipira.

Os animais foram manejados em sistema de piquetes com área de 2 (dois) m²/animal, sendo as fêmeas com alta consanguinidades. As aves eram vacinadas para doença de New Castle e Bouba Aviária. O protocolo de vermifugação era praticado com intervalo de 6 (seis) meses utilizando piperazina 36%, e estas tiveram livre acesso à água tratada pela empresa da cidade (DMAE). As fêmeas recebiam concentrado da categoria de reprodução e postura de ovos da marca COMIGO (tabela 2) além de comerem eventuais insetos e grammas que tinham acesso.

Um total de 4 (quatro) piquetes foram utilizados sendo 1 (um) lote de animais em cada. Os grupos foram divididos da seguinte forma: G1 e G2: IA com ejaculado do macho; G3 e G4: MN na presença do macho.

Para maior confiabilidade no processo de IA e MN, as fêmeas ficaram sem a presença de qualquer macho por um período de 20 dias após a seleção das mesmas em cada piquete, pretendendo-se minimizar a possibilidade da presença de células espermáticas obtidas em cópulas anteriores. Foi também realizado o manejo de aplicação de luz artificial, considerando que no período a ser realizado o trabalho, as horas com presença de luz natural não favoreciam

a postura de ovos, necessitando uma complementação da mesma, respeitando ações fisiológicas ocorridas por efeito de foto período, somando-se luz natural e luz artificial tendo um total de 16 horas por dia.

Para realização da IA separou-se o macho por um intervalo de 24 horas sem atividade sexual para que pudesse ser realizada a coleta com um volume significativo para o procedimento. Na coleta, realizada no período da manhã, fez-se massagens no dorso do animal ao longo das vertebrae torácicas e lombares de modo a excitá-lo até a exposição do falo e, logo após uma suave pressão na cloaca houve a expulsão do ejaculado coletando-o em um recipiente (neste caso usou-se um tubo coletor de fezes estéril), em seguida fez-se mensuração do material com seringas descartáveis de 1mL. Diluiu-se o ejaculado em solução fisiológica pré-aquecida a uma temperatura aproximada de 36°C, numa proporção de 1:2,3 (uma parte de sêmen que corresponde a 0,6 mL e 2,3 partes de soro fisiológico correspondendo a 1,4mL); e dividiu-se esta solução contendo 2mL (dois mililitros) em doses suficientes para inseminar 10 (dez) galinhas, sendo 0,2 mL por aves. O uso da solução fisiológica, justifica-se por ser um material fácil de encontrar em ambientes comerciais da área, e apesar de ser uma solução diferente do ringer modificado, não interfere nas taxas de fertilização. Para cada ave fora usada uma seringa descartável com a dose inseminante de 0,2mL e concentração espermática de $4,2 \times 10^7$ células, número baixo ao se comparar a indicação de 1×10^8 de células espermáticas vivas (MCDANIEL, 2002).

O estímulo das galinhas também foi feito com massagens no dorso do animal ao longo das vertebrae torácicas e lombares, de modo a excitá-las até a eversão da cloaca e, logo após uma suave pressão na mesma, introduziu a seringa com a dose inseminante até o fundo e injetou-se o material genético do macho. Procedimento realizado inicialmente no lote G1 e G2. Fez-se a IA das fêmeas dos grupos G1 e G2, até 1 (uma) hora após a coleta do ejaculado e diluição, com intervalos de 8 (oito) dias entre a primeira e a segunda IA, respeitando o jejum sexual do macho de 24 (vinte e quatro) horas.

Após a primeira coleta, o macho foi confinado mais uma vez para que num prazo de 24 horas, pudesse realizar novamente o processo para a inseminação do outro lote de fêmeas (G2) selecionadas para o procedimento de IA.

Logo após a coleta do material para a IA do segundo grupo, no mesmo dia, o macho foi solto ao lote G3 para iniciar as atividades de MN e no dia posterior foi retirado do G3 e colocado ao G4, realizando nestes grupos um rodizio alternado em dia sim e dia não de MN até que se completasse 3 dias alternados de serviço em cada lote.

Para avaliação da fertilidade, foi realizado a incubação dos ovos sendo chocados em dois conjuntos diferentes; ovos coletados a partir da primeira IA e primeira MN e ovos coletados a partir da segunda IA e segunda MN. A coleta dos ovos advindos das posturas dos 4 lotes, foi efetuada 2 vezes ao dia (nas horas frescas da manhã e tarde) e armazenados em cartelas de ovos convencionais. De todos os grupos utilizou-se para o experimento ovos postos a partir do dia posterior a IA ou a MN até que se totalizasse 5 dias de coleta.

Aproveitou-se para incubação os ovos com até 7 dias de armazenamento, sendo higienizados com pano úmido com água para retirada de sujidades e identificados com canetas marcadoras de texto os quais foram colocados em chocadeiras confeccionadas para tal projeto, feitas com materiais e medidas que comportassem 126 unidades para incubação e programação que respeitassem a temperatura média de 37,7°C, umidade 60% e viragem dos ovos realizada de duas em duas horas. Após o período de incubação avaliou-se as taxas de fertilização, mortalidade embrionária e qualidade dos pintos e eclosão.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso para seleção das aves que compuseram os lotes levando em consideração alta consanguinidade entre fêmeas. Foi feita análise estatística utilizando o teste Qui-Quadrado seguido pelo binomial entre duas proporções ($p \leq 0.05$) utilizando-se o programa *Graph Pad Prism 7.0* para análise.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram colhidos um total de 144 ovos após as duas fases de IA e MN. Deste total, foram selecionados 120 ovos para incubação, respeitando um padrão de formato e tamanho, excluindo ovos pequenos e arredondados ou trincados, dos quais, 60 ovos da primeira semana pós IA e MN, e outros 60 ovos oriundos da segunda semana de IA e MN. Mediante avaliação da fertilização do total de ovos teve-se 52,5% (63/120) de fertilizados, sendo que, 79% (50/63) eclodiram em boa viabilidade de nascidos.

Não houve diferença estatística nos resultados de eclosão, mortalidade embrionária precoce e fertilização entre ovos oriundos de IA e MN (tabela 2).

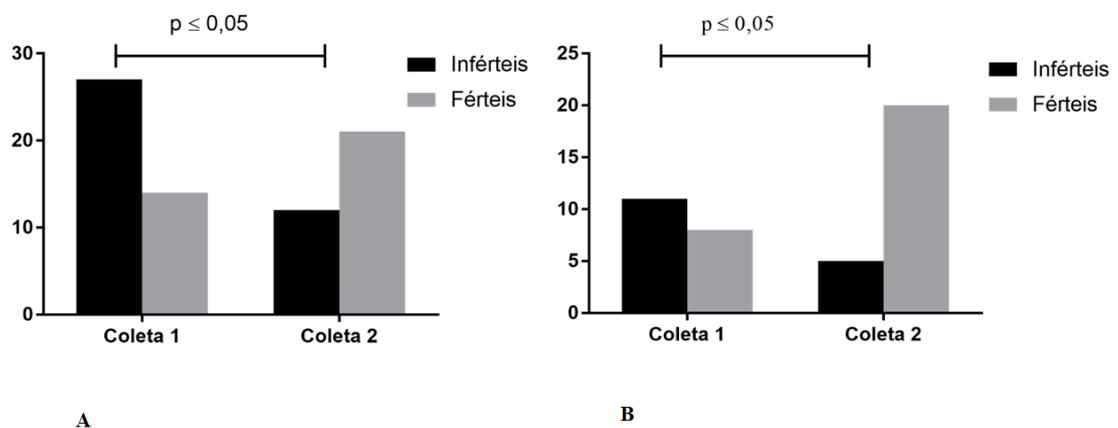
Tabela 2. Avaliação percentual das características de fertilização, eclosão e morte embrionária precoce de ovos oriundos de inseminação artificial (IA) e monta natural (MN).

	IA (1)	IA (2)	MN (1)	MN (2)
Ovos férteis	34% (14/41)	63,6% (21/33)	31,5% (6/19)	81,5% (22/27)
Eclosão	85,7% (12/14)	71,4% (15/21)	83,3% (5/6)	81,8% (18/22)
Mortalidade embrionária precoce	14,3% (2/14)	28,6% (6/21)	16,7% (1/6)	18,2% (4/22)

(1) Dados referentes a ovos oriundos da primeira IA ou MN. (2) Dados referentes a segunda IA ou MN

A fertilidade dos ovos foi maior na segunda coleta em relação a primeira, tanto em ovos oriundos de MN quanto de IA sendo que, o percentual de ovos férteis de MN foi 31,5% (6/19) e 81,5% (22/27) na primeira e segunda coleta respectivamente. Já por IA obteve-se 34% (14/41) e 63,6% (21/33) na primeira e segunda coleta respectivamente (figura 1).

Figura 1. Número de ovos férteis e inférteis na primeira e segunda coletas



A. Número de ovos inférteis e férteis na inseminação artificial e B. Números de ovos inférteis e férteis na monta natural.

Ovos oriundos da primeira IA e MN apresentaram um baixo percentual de fertilidade ao se comparar à segunda IA e MN. Podendo ser explicado por baixo número de células espermáticas dentro dos túbulos de armazenamento de sêmen localizados na junção uterovaginal, devido ao período de jejum sexual de 20 dias dessas aves antes da inseminação. Embora Hafez & Hafez (2004) cite que os espermatozoides de galos possam ficar

aproximadamente até 32 dias viáveis nestes túbulos ou segundo Romanoff (1960) até 20 dias, a fertilidade dos ovos cai a partir de 5-7 dias nas galinhas (LEITE, 2009; BRAGA, 2016).

Braga (2016) utiliza o teste de avaliação de perfuração de membrana perivitelina em ovos de peruas, demonstrando que a partir de 7 dias após a IA, há uma redução na viabilidade espermática presente nos túbulos, concluindo-se que necessita de outra IA em intervalos menores a uma semana para que não haja perda na eficiência reprodutiva.

Segundo Ma (2013) as inseminações devem ser realizadas em dois dias consecutivos na primeira semana e depois uma vez por semana até que se tenha a quantidade de ovos férteis pretendidos. Também indica a realização do procedimento no período da tarde sendo em momentos frescos do dia, descrevendo que pela manhã, as galinhas apresentam ovos no ovitudo dificultando a passagem do sêmen até o infundíbulo. No presente trabalho efetuou-se apenas uma IA na primeira semana repetindo-a após 8 dias. Além disso os machos tiveram um descanso de apenas 24 horas para evitar viés metodológicos e todos esses fatos aliados com os 20 dias de descanso sexual da fêmea podem justificar os baixos índices de fertilização na primeira coleta (tabela 1).

Foram avaliados também as taxas de fertilização (tabela 3) e mortalidade embrionária (tabela 6) nos dias após a IA ou MN e, não houve diferença entre os dias para nenhuma das variáveis avaliadas embora no quinto dia após a coleta de ovos por IA a taxa de infertilidade entre IA e MN apresentou um valor de $p = 0,058$ que é bem próxima a 0,05. No entanto essa taxa de fertilização no quinto dia após a IA não foi capaz de levar a uma diferença de fertilidade e eclosão no resultado final.

Tabela 3. Taxa de infertilidade de ovos oriundos de aves com monta natural e inseminação artificial de 1 a 5 dias após a cobertura - primeira e segunda atividades.

	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	total
IA%	76,47%	38,46%	50,00%	46,67%	46,67%	52,70%
(Inf/inc)	(13/17) ^a	(5/13) ^a	(7/14) ^a	(7/15) ^a	(7/15) ^a	(39/74) ^a
MB%	53,85%	40,00%	41,67%	25,00%	0,00%	34,78%
(Inf/inc)	(7/13) ^a	(2/5) ^a	(5/12) ^a	(2/8) ^a	(0/8) ^b	(16/46) ^a
p	0,2553	>0,999	0,7127	0,3998	0,058	0,621

Letras diferentes na coluna representam diferença estatística. Inf: Inférteis; Inc: Incubados

Tabela 4. Taxa de infertilidade de ovos oriundos de aves com monta natural e inseminação artificial de 1 a 5 dias após a cobertura - Primeira atividade.

	1 dia	2 dias	3dias	4 dias	5 dias	total
IA %	100%	28,57%	57,14%	75,00%	55,55%	65,85%
(Inf/inc)	(10/10) ^a	(2/7) ^a	(4/7) ^a	(6/8) ^a	(5/9) ^a	(27/41) ^a
MB%	85,71%	100%	66,66%	25,00%	0,00%	57,89%
(Inf/inc)	(6/7) ^a	(0/0) ^a	(4/6) ^a	(1/4) ^a	(0/2) ^b	(11/19) ^a

Tabela 5. Taxa de infertilidade de ovos oriundos de aves com monta natural e inseminação artificial de 1 a 5 dias após a cobertura - Segunda Atividade.

	1 dia	2 dias	3dias	4 dias	5 dias	total
IA %	42,85%	50,00%	42,85%	14,28%	33,33%	36,36%
(Inf/inc)	(3/7) ^a	(3/6) ^a	(3/7) ^a	(1/7) ^a	(2/6) ^a	(12/33) ^a
MB%	16,66%	40,00%	16,66%	25,00%	0,00%	18,51%
(Inf/inc)	(1/6) ^a	(2/5) ^a	(1/6) ^a	(1/4) ^a	(0/6) ^b	(5/27) ^a

Tabela 6. Taxa de Mortalidade embrionária por idade de ovos oriundos de aves com monta natural e inseminação artificial de 1 a 5 dias após a cobertura.

	Contaminado	ME precoce	ME intermediária	ME tardia
IA %	0,00%	4,05%	1,35%	5,41%
(morto/inc)	(0/74) ^a	(7/74) ^a	(1/74) ^a	(4/74) ^a
MB%	2,17%	4,35%	0,00%	6,52%
(morto/inc)	(1/46) ^a	(2/46) ^a	(0/46) ^a	(3/46) ^a
p	>0,999	>0,999	>0,999	>0,999

Letras diferentes na coluna representam diferença estatística. Inc: Incubados

5 CONCLUSÃO

Ovos oriundos de primeira IA ou MN após jejum sexual das fêmeas apresentam menor taxas de fertilização ou eclosão quando comparadas à segunda IA ou MN, justificando-se pelo baixo número de células espermáticas presente nas glândulas armazenadoras das galinhas,

devido ao jejum sexual de 20 dias, pretendido para execução das atividades. No entanto não há diferenças estatísticas entre as taxas de fertilidade e eclosão em ovos oriundos de aves com IA e MN o que indica que um manejo pode ser substituído pelo outro sem prejuízo dos índices zootécnicos.

REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira Proteína Animal. Mercado Mundial. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>. Acesso em 08 de novembro de 2018.
- ALBINO, L.F.T. Criação de Frango e Galinha Caipira: Avicultura Alternativa. 2. ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2005. 208 p.
- BAKST, M. R.; WISAHRT, G.; BRILLARD, J. P. Oviductal sperm selection, transport and storage in poultry. *Poultry Science Review*, Amsterdam, v. 5, p. 117-143, 1994.
- BARGALHARDO, D. C.; CORCINI, C.D. VII Curso Teórico-prático de Processamento de Sêmen e Inseminação Artificial em Aves. LABRA, Pelotas, p. 2-17, 2017.
- BARBOSA, F. J. V.; ARAÚJO NETO, R. B. de; SOBREIRA, R. dos S.; SILVA, R. A. da; GONZAGA, J. de A. Seleção, acondicionamento e incubação de ovos caipiras. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2004. 1 Folder. Biblioteca(s): Embrapa Meio Norte / UEP-Parnaíba.
- BECK, P. Aves caipiras: tecnologia alavanca mercado da raça Índio Gigante, 2017; Disponível em: <https://avicultura.info/pt-br/tecnologia-alavanca-raca-indio-gigante/>. Acesso em 13 de junho de 2019.
- BECKER WA. The storage of hatching eggs and the post-hatching body weights of chicken. *Poultry Science* 1960; 39:588-599
- BONGALHARDO D.C. Produção e preservação do sêmen de galos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. Belo Horizonte, v.37, n2, p.131-135, abri/jun. 2013.
- BRAGA, P. F. de S. Relação do Tempo de Armazenamento dos Espermatozoides do Oviduto de Peruas com a Fertilidade e Desenvolvimento Embrionário. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia;2016. p. 11-46.
- BURROWS, W. H.; QUINN, J. P. The Collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*, Amsterdam, v. 16, p. 19-24, 1937.
- DUARTE V.; SILVA C.; SANTOS M.F.R; PERIM F.S. Inclusion of canthaxanthin and 25-hydroxycholecalciferol in the diet of broiler breeders on performance and incubation parameters. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.45, n.11, p.2050-2055, nov, 2015.
- FLORIANO, L. S. Anatomia e fisiologia das aves domésticas; Urutaí:e-Tec Brasil, 2013
- FOOTE, R. H. The history of artificial insemination: selected notes and notables. Disponível em: <http://www.asas.org/symposia/esupp2/Footehist.pdf>. Acesso em: 29 set. 2002.
- FUJIHARA N. Accessory reproductive fluids and organs in male domestic birds. *World's Poultry Sci J* 1992; 48:39.
- HAFEZ, E.s.e.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7. ed. Barueri: Manole, 2004.

KARACA A. G.; PARKER H. M.; MCDANIEL C. D. Elevated body temperature directly contributes to heat stress infertility of broiler breeder males. *Poultry Science*. 81: 1892-1897, 2002.

KARAUAT, N.S. CHAUDHARY. G.R. BALMURUGAN .B. Significance of Artificial Insemination in Poultry. Vol. 05. India: Research & Reviews: Journal of Veterinary Science and Technology, 2016. p.1-5.

KIRBYJD, FROMAN DP. Reproduction in the male bird. In: Whitton GC, ed. *Sturkie's Avian Physiology*. Orlando: Academic Press, 1998.

LEITE MA da S, VIVEIROS AT de M. Coleta de sêmen e inseminação artificial em galinhas. [Boletim Técnico 71]. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2009. p.1-19.

MA J, CHEN P, XU G, PENG Z, YANG C, SHU D, WANG J, LUO C and QU H. Sperm competition greatly decreases the time interval when breeder hens are artificially inseminated by different cockerels. China, *The Journal of Applied Poultry Research* 22: 19- 26. 2013.

MACARI, Marcos et al (Ed.). **Manejo da Incubação**. 3. ed. Jaboticabal: Facta, 2013. 468 p.

MAEDA, T. Timing and Interval Effects of Repeated Inseminations by Roosters on the Fathering of Chicks. Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan, 2018.

MARTIN, R. D. Artificial insemination of poultry. Disponível em: <<http://www.bernalpublishing.com/poultry/essay/essay14.shtml>>. Acesso em: 20 set. 2003.

MATHER CM, LAUGHLIN KF. Storage of hatching eggs: The effect on total incubation period. *British Poultry Science* 1976; 17:471-479.

MCDANIEL, G. R. Manejando los reproductores broilers para obtener máxima fertilidad. *Avicultura profesional*, [S.l.], v. 20, n. 6, p. 16-17, 2002.

MIES FILHO, A. Inseminação artificial. Porto Alegre: Artmed, 1987. v. 2.

OSMAN DI, EKWALL H, PLOEN L. Specialized cell contacts and the blood-testis barrier in the seminiferous tubules of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Int J Anrol* 1980;3:553

PROUDFOOT FG, HULAN HW. Care of hatching eggs before incubation [publication 1573/E]. Ontario: Canadian Department of Agriculture; 1983.

REIJRINK IAM, MEIJERHOF R, KEMP B, BRAND H. VAN DEM. The chicken embryo and its micro environment during egg storage and early incubation. *World's Poultry Science Journal* 2008; volume 64; p.581-598.

ROMANOFF, A.L., *The Avian Embryo. Fertilization and fertility*. New York, NY. ed: McMillian, 1960. p. 75-111.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M. A.; PAN, E. A. *Fisiologia e manejo reprodutivo de aves*. Pelotas: UFPel, 1996. Apostila.

SNA. Sociedade Nacional de Agricultura. Aves caipiras: tecnologia alavanca mercado da raça Índio Gigante, 2017. Disponível em: <https://www.sna.agr.br/aves-caipiras-tecnologia-alavanca-mercado-da-raca-indio-gigante/>. Acesso em 13 de junho de 2019.

Universidade Federal do Amazonas - Faculdade de Ciências Agrárias - Setor de Avicultura - Campus Universitário - Setor Sul; Inseminação Artificial; Manaus, Amazonas, Brasil; Disponível em: <http://avimazon.ufam.edu.br/pesquisa/inseminacao-artificial>. Acesso em 13 de junho de 2019.