

FECUNDAÇÃO ARTIFICIAL

Conferencia realizada em Buenos Aires, pelo prof. dr. John Hammond, no dia 16 de setembro de 1936, sob os auspícios da Faculdade de Agronomia e Veterinaria Argentina.

Ao iniciar estas considerações, sobre fecundação artificial, devo salientar que, contrariamente ao que supõem ás vezes os criadores, — os animais nascidos da inseminação artificial crescem, tão bem, como aqueles que se originam de uma reprodução por via natural.

Historico — A arte de fecundar, artificialmente, os animais não é, como se supõe comumente, uma coisa completamente nova, pois que em tempos remotos já os arabes a applicavam, na multiplicação de seus cavalos. Os primeiros estudos feitos, sobre bases verdadeiramente científicas, foram iniciados por volta do ano de 1780, por Spallanzani, o qual realizou experiencias em cães, porém tais ensaios não saíram do laboratorio, e sua applicação pratica, nos animais de criação, não se fez até cerca de 1900, quando Ivanoff utilizou a fecundação artificial na Russia, e Heape na Inglaterra.

Nos Estados Unidos ela foi applicada como meio de evitar a esterilidade nas eguas. Recentemente, entretanto, seu uso foi grandemente estimulado, por causa de novos metodos de obtenção do semen, graças a Newmann e seus colaboradores na U. S. S. R., e ao aperfeiçoamento do metodo de conservação do esperma, devido a Walton, de Cambridge. Por exemplo, no ano passado foram fecundados, com este metodo, na Russia,

mais de dois milhões de ovelhas, além de muitas eguas, vacas e outros animais.

Aplicação — Muitas são as aplicações para a inseminação artificial, não somente para curar certas formas de esterilidade (especialmente em cavalos e em bovinos), e para evitar a propagação de certas enfermidades nas regiões onde elas predominam (tais como a durina dos equinos, e o aborto contagioso dos bovinos), senão também no processo normal da criação dos animais domesticos. A aplicação mais importante é a que permite multiplicar as fecundações, que se obtêm dos reprodutores "comprovados". Com referencia especial aos bovinos, sabe-se que as varias causas, capazes de reduzir a fecundidade das femeas, e o numero reduzido de filhos que estas produzem, impede uma seleção num numero maior de animais, tendo por base seus meritos especiais.

Ao contrario, uma seleção muito maior se pode conseguir entre os machos, especialmente depois que hajam sido submetidos a nma prova da progenitura. O aumento do numero de filhos, que os machos selecionados podem proporcionar, representa a maneira mais eficaz, que atualmente possuímos para melhorar os nossos animais.

A possibilidade de conservar o esperma fertil, fora do corpo do animal, durante o maior espaço de tempo, permite o transporte do material fecundante, de um país para outro, por via aérea, em lugar de se exportarem os melhores reproductores machos, como se faz em toda a parte, com evidente prejuizo para o rebanho de onde saem tais reproductores. Quando o metodo estiver suficientemente aperfeiçoado será de grande utilidade para os criadores dos climas tropicais, onde ha dificuldade aclimar o sangue melhorado, que vem de fora, tornando muito onerosa tal oporação. Em condições más de vida, o gado europeu, nos tropicos, degenera prontamente e morre, emquanto que os mestiços, originados de animais criolos são mais resistentes ao clima e ás enfermidades.

Outra aplicação da fecundação artificial consiste em operar a reprodução entre as especies diferentes (como se faz na Russia) e entre animais cuja fecundação natural (o coito) é difficil, sinão impossivel.

Por exemplo, o dr. Walton, de Cambridge, conseguiu, por este meio, reproduções reciprocas entre as raças equinas maiores (Shire) e as menores poneys (Shetland). Nesta reprodução se nota o facto interessante de que os mestiços não são de igual porte, segundo seja a mãe Poney ou Shire. No primeiro caso (femea Poney) os produtos são menos desenvolvidos do que no segundo (mães Shire) como consequencia de uma modificação, ou character não hereditario, que se relaciona com o volume reduzido da femea, o qual fisiologicamente não permite um desenvolvimento maior do filho em gestação.

Metodos de coleta do esperma — Os metodos mais antigos de coleta do semen não eram absolutamente satisfatorios. Aquele que consistia em absorver o esperma, simplesmente, de dentro da vagina, ocasionou frequentes inconvenientes no cavalo, devido ao facto de que a ejaculação se opera, muitas vezes no proprio utero, circunstancia que, entretanto, não se verifica nas outras especies animais.

Tambem não é satisfatorio, ainda, o metodo da esponja, porque não somente o esperma se contamina frequentemente com mucosidades e bacterias da vagina, como porque certa quantidade dos espermatozoides fica aderente á esponja, encurtando-se assim sua vida. O tubo recoletor de borracha, aplicado á mão, tambem apresenta suas desvantagens, porque é difficil conseguir que o reprodutor se sirva livremente depois de sua applicação.

Felizmente, agora, descobriram-se varios metodos novos, que permitem resolver favoravelmente o problema.

1 — A vagina artificial — Foi preparada por Newmann e seus colegas na Russia. Esse aparelho se aplica exteriormente á femea, de maneira que o reprodutor ejacule nele. O tipo de vagina artificial usado varia, ligeiramente, para as diferentes especies, porem o principio geral é em todas o mesmo. Para o touro consiste em um cilindro de mais ou menos 50 cms. de comprimento, no qual se acha um tubo de borracha (como a camara de ar de uma bicicleta) que se dobra e prende nas extremidades, enchendo-se d'agua (á temperatura do corpo) o espaço entre o tubo e o cilindro exterior. A parte interior do

tubo será untada de vaselina pura. No extremo se adapta um frasco contendo um pouco de parafina líquida medicinal. Este frasco deve ter um colo estradgulado, afim de que a parafina não volte ao tubo, e assim possa cobrir imediatamente o semen coletado. E' muito necessario que a temperatura no interior do tubo seja igual á do corpo (38°-42° C.), porque, do contrario não se produz a ejaculação si o aparelho estiver muito quente ou frio.

Para os garranhões aplica-se ao cilindro um pequeno tubo, que serve para a introdução de ar, e para inflar ou desinflar o aparelho com o fim de que este se adapte perfeitamente ao penis do animal.

Tratando-se de carneiro ou de machos de outra especie, na qual os individuos podem ser facilmente segurados, não é necessario que as femeas estejam no cio, quando são utilizadas para recolher o semen.

2 — **Metodo da simulação** — Na Russia, usa se, tambem, o metodo chamado da "simulação" que tem sido empregado ainda, com exito, pelo dr, Walton, de Cambridge. Aqui se prepara um animal simulado, uma especie de "bruxa" de material resistente, e que convida o macho a cobri-la e a ejacular. Para se conseguir uma ação reflexa satisfatoria, necessita-se certa preparação e treino do reprodutor. Para isso se leva regularmente o macho a um determinado lugar, aonde cobrirá algumas femeas. Deste modo o reprodutor chega a aprender, assim, quando uma femea está no dito lugar, pronta para ser coberta, e será então a ocasião de colocar ali o simulacro de animal, sobre o qual o macho se atirará ejaculando. Não se torna necessario que o animal artificial seja, sempre, da mesma especie do reprodutor, ou tenha grande parecido com o animal vivo. Para certas especies, como o porco, que demora a ejacular, introduz-se no cilindro um tubo de borracha com uma seringa na extremidade, de maneira a se exercer uma compressão de ar, ritmica, sobre o penis durante a cobertura.

3 — Metodo das massagens — Em alguns casos o touro pode ser demasiadamente velho, decrepito, de modo que se torna impossivel o coito, por este ou por outros motivos. Nestes casos pode-se usar um metodo imaginado por Miller e Evans, do Dep. de industria animal dos E. U., e que consiste em obter o esperma por meio de *massagens no conduto deferente*, applicando a mão por via retal. Se o semen deve ser conservado, é melhor fazer uma massagem previa nas visiculas seminais, e recolher o liquido claro num tubo de ensaio colocado no penis, usando depois outro tubo para recolher os espermatozoides (fluido lacteo) quando se praticar a massagem no conduto deferente. Isto se faz necessario, porque as secreções das glandulas accessorias ativam os espermatozoides, encurtando a vida deles.

4 — Metodo electrico — Ha um metodo, ainda, que é indicado para a especie ovina, e que foi idealizado por Gunn, em Sidney (Australia), e applicado com exito por Walton, de Cambridge. E' o metodo electrico.

Coloca-se o polo de um eletrodo, isolado convenientemente na extremidade, — no reto do animal, e o outro polo (afetando a forma de uma agulha) é introduzido nos musculos lombares, ao nivel da quarta vertebra. Desta sorte se pode fazer passar uma corrente alternativa de 30 volts, aproximadamente, pelo centro de ejaculação da medula. Si a corrente passar ritmicamente, com uma duração de 4 segundos e um repouso de dez, após a terceira ou quarta passagem de corrente, o semen é ejaculado, e então poderá ser recolhido em um tubo de ensaio. Durante o processo torna-se necessario anestesiar, levemente, o carneiro, porque do contrario não será difficil que impulsos inibitorios, conscientes, se verifiquem, detendo a manifestação do ato reflexo. O metodo não tem nenhum efeito malefico sobre o animal.

A conservação do esperma — Os espermatozoides, no momento da ejaculação, contêm somente determinada quantidade de energia, Para mantê-los vivos torna-se necessario que essa energia seja conservada, o que se consegue mantendo-os imoveis Isto quer dizer que devem ser conservados do mesmo

modo que um animal em estado de hibernação, em baixa temperatura e com a respiração diminuída.

O semen, quando é ejaculado, contém muito anidrido carbonico, e muito pouco oxigenio. Recolhendo-o e conservando-o em parafina liquida retarda-se o intercambio gazoso. Os espermatozoides, como o bacilo do aborto, melhor vivem em meios semi-anaerobios, e tambem podem ser conservados, em boas condições, em tubos estreitos e fundos, sem parafina, si a atmosfera se mantem humida, porque assim eles procuram o fundo do liquido onde permanecem. A baixa temperatura é tambem muito necessaria para a conservação das propriedades do esperma. Os resultados de ensaios com espermatozoides de coelho demonstraram que, toda a vez que o esperma é resfriado rapidamente, a melhor temperatura para a sobrevivencia deles é 10° C. Recentemente, entretanto, verificou-se que, no caso do esperma do carneiro, quando o resfriamento é gradativo, e por isso ha formação de gaz carbonico no liquido, será melhor conserva-lo a 2° C.

As secreções das glandulas accessorias tendem a ativar o esperma, e deste modo afetam as qualidades conservatrizes do mesmo. Ha uma grande diferenca entre as especies quanto á quantidade de secreções das glandulas accessorias, presentes na ejaculação. Presentemente procura se aperfeiçoar os metodos de reduzir, ao minimo, os efeitos de tais diferenças. Por exemplo, Walton logrou aumentar a vida dos espermatozoides do cavallo, submetendo o esperma á centrifugação, de modo a separar o esperma vivo das secreções accessorias, que acompanham os espermatozoides.

A indicação da força de fecundidade do semen é dada pelo grau de motilidade dos espermatozoides. Torna-se necessario que eles conservem, então, energia suficiente para poderem mover-se e alcançar as trompas de Fallope, atingindo ao ovulo. Ao fazer a fecundação artificial convem verificar, antes, a fertilidade real, como tambem registrar a motilidade dos espermatozoides.

Metodos de inseminação — Depois que o esperma foi obtido e conservado durante certo tempo, á baixa temperatura,

é necessario ativa-lo antes da inseminação. Isto se faz aumentando gradualmente a temperatura, e juntando soluções isotonicas, de sais, que têm o mesmo efeito que as secreções accessorias. Os melhores diluidores, a empregar, variam com as especies. Sua composição foi estudada na Russia, e é a seguinte :

Composição dos diluidores para inseminação artificial

Solução n. 1	Ovinos	Bovinos	Equinos	Coelhos
Glucose anhidrica	64	57	57,6	39
Agua	1000	1000	—	—
Solução n. 2				
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	41,6	34,1	—	—
KH ₂ PO ₄	1,7	1,4	—	—
Ca HPO ₄	0,1	0,1	—	—
Mg HPO ₄	0,1	0,1	—	—
Na ₂ SO ₄	—	1,7	3,4	3,55
Peptona sem sal	—	—	2,0	2,0
Agua	1000	1000	1000	1000

A solução n. 1 é preparada no momento de ser usada. A solução n. 2 é previamente preparada e guardada em tubos lacrados e esterilizados. Antes de usar, misturam-se então as duas soluções.

Para fins praticos é melhor preparar os diluidores, como acima está descrito, servindo se de recipientes de vidro, conservados lacrados, para tê-los limpos na ocasião de usar.

O tipo de inseminador varia conforme as especies, porem, deve-se evitar em sua construção qualquer parte de metal, porque este prejudica aos espermatozoides. O melhor material será o vidro e a vulcanita.

Para empregar o inseminador introduz-se um espéculo na vagina, espéculo que varia segundo a especie animal, de maneira que se possa ver o colo do utero e assim será facil injetar, diretamente, na matriz uma pequena quantidade de

esperma. Ao fazer a injeção, diretamente, no utero, consegue-se, com isso, uma economia de liquido, porque, levando em consideração o facto de que os espermatozoides caminham em todas as direções, deste modo se consegue a maioria deles se dirija no sentido conveniente, e que eles não se percam na vagina, como sucede no caso de fecundação natural.

Diferenças especificas — A natureza do semen varia, grandemente, com as especies. Isto determina grandes diferenças, primeiro, no numero de femeas que se pode inseminar, com o produto de uma só ejaculação de um macho, e, segundo, no periodo de tempo, que os espermatozoides podem se manter vivos, fora do corpo. Todavia não se conseguiu obter ainda a indicação precisa para cada uma das especies domesticas. O que se sabe até agora está resumido no quadro abaixo.

Especie	Quantidade ejaculada c. c.	Secreções accessorias	N.º de espermatozoides por c. c. Miliares	Vitalidade	Proporção de semen para o diuidor c. c.	Doses c. c.	N.º possível de inseminações por ejaculação
Carneiro	1	pouco	2,5	5 dias	1:3	0,1	40
Touro	4 ½	moderado	1,0	3 „	1:1	0,5	18
Cavalo	80	abundante	0,2	½ „	1:0	15.	5
Porco	120	muito	0,3	?	1:0	60	2

Os experimentadores russos mencionam casos de vitalidade muito maior, para os espermatozoides fora da glandula. Aqui indiquei, porem, os resultados das experiencias realizadas, até agora, pelo dr. Waltón, em Cambridge.

Tratando se de ovelhas, que são animais que necessitam quantidades muito pequenas de semen, para se verificar a fecundação é conveniente o uso de um micro-inseminador. Por esse meio foram fecundadas, no ano passado, 2.500 ovelhas, com o semen de um só carneiro, e a porcentagem de fecundações foi de 92 %.