

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

**DIAGNÓSTICO PRECOCE DO SEXO FETAL DE CAPRINOS E OVINOS
PELA ULTRA-SONOGRAFIA**

Maico Henrique Barbosa dos Santos

**TESE DE DOUTORADO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**Recife-PE
2006**

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Maico Henrique Barbosa dos Santos

**DIAGNÓSTICO PRECOCE DO SEXO FETAL DE CAPRINOS E OVINOS
PELA ULTRA-SONOGRAFIA**

TESE DE DOUTORADO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de **DOUTOR** em Ciência Veterinária.

**UFRPE
Recife-PE, Brasil
2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**DIAGNÓSTICO PRECOCE DO SEXO FETAL DE CAPRINOS E OVINOS
PELA ULTRA-SONOGRAFIA**

Tese de Doutorado elaborada por

MAICO HENRIQUE BARBOSA DOS SANTOS

Aprovada pela

COMISSÃO EXAMINADORA:

Marcos Antonio Lemos de Oliveira
- Professor Orientador -

Jairo Pereira Neves
- Professor da UNB -

Sony Dimas Bicudo
- Professor da UNESP/Botucatu -

Anneliese de Souza Traldi
- Professora da USP/Pirassununga -

Carlos Henrique Cabral Viana
- Professor da PUC/Minas -

Raimundo Vicente de Sousa
- Professor da UFLA -

Recife - 2006

DEDICATÓRIA

Com amor, carinho, amizade e respeito, dedico aos meus avós, aos meus pais (Henrique e Leny) e irmãos (Tiago e Ellen) por estarem sempre ao meu lado independentemente da ocasião.

**“Um problema só surge quando
estão presentes todas as
condições para solucioná-lo.”**

(Karl Marx)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à DEUS por nos dar o Dom da vida e do amor, além de nos carregar nos braços quando pensamos em desistir da caminhada.

Aos meus avós paternos Brás (*in memorian*) e Genoveva (*in memorian*) pelo pequeno, mas prazeroso período de convivência.

Aos meus avós maternos Antônio (Tuníco) e Ilza pelo amor e carinho incondicional.

Aos meus pais Henrique e Leny, pelo fato de minha existência (“Deus sabia que não poderia estar em todos os lugares ao mesmo tempo, então Ele criou as Mães”).

Aos meus irmãos Tiago e Ellen, pelo apoio constante.

A todos os demais familiares (tios, tias, primos, primas e agregados) por terem influenciado, de certa forma, na minha criação.

Ao professor, orientador, amigo, conselheiro, às vezes pai, às vezes irmão, Marcos Antonio Lemos de Oliveira pelo auxílio constante e incondicional a mim prestado até então.

À Dona Helena e Dona Almira, pelo carinho e consideração maternal a mim dispensados.

À todas aquelas pessoas (Professores) que se dispõem à árdua e difícil missão de ensinar. Em especial à professora Maria Helena Quatrini (*in memorian*) pela minha alfabetização; ao professor José Luíz dos Santos, pelos ensinamentos matemáticos; à Adriana Garcia, Raimundo Vicente de Sousa, Maria das Graças Carvalho Moura e Silva e Pedro Bezerra pela amizade verdadeira e conselhos a mim dirigidos; aos professores Paulo Fernandes de Lima, Roseana Tereza Diniz de Moura, Rozélia Bezerra, Maria Cristina Coelho, Maria José de Sena, Márcia Brayner Paes Barreto, Anneliese de Souza Traldi pela consideração, amizade e paciência.

À Newton Mendes de Carvalho, pelo constante incentivo em minha carreira.

Aos amigos Sebastião Inocêncio Guido e Fernando Tenório Filho, pela paciência e dedicação nos ensinamentos ultra-sonográficos.

À Mário Jr. e Paulo Gouveia pelos conselhos e trocas de experiência (“A experiência nada mais é do que um conjunto de erros acumulados e corrigidos ao longo do tempo”).

Aos amigos Aduino Chiamenti, Nei Rômulo, Marcelo Rabelo e Ricardo Chaves pelo companheirismo, fraternalismo e principalmente pela grande virtude de saber escutar o próximo.

Aos companheiros da Pós-Graduação: Alessandra, Andréa Fernandes, Bárbara Loureiro, Carlos Geraldo, Celestino, Cícero Cerqueira Cavalcanti Neto, Durval Baraúna, Érica Moraes, Emanuella, Grazielle Aleixo, Glenda, Jamile Prado, Jaqueline, Jorge Motta, Mariana Ramos, Ricardo Chiorato, Sildivane, Vanda, Viviane Pina, Zoráide.

Aos remanescentes da saudosa República Senta' Pua (Peixoto, Mandi, Manjiro, Shigueiro, Newtinho, Milão, Dú, Serjão, Dani, Alvinho, Maurício, Leandro, Renato, Pan, Celino, Zom, Wilmer, Andrês, Elói, Grazi Capelo, Josie Vieira, Tati, Flávia, Dani Herrera, Dani Carneiro, Izabela Falco, Joseth, Trícia, Ciça, Silke, Karina Duarte, Jamile, Zé Nélio, Goiano, Marcelo Hentz, Lúcio Boca, Thaís Viana, Camila Carvalho) por tornarem a época da graduação ainda mais prazerosa.

Aos irmãos da República Pernambucana (Arthur, César, Edinho, Filipe) e Eduardo Piauí por terem me acolhido, pela convivência e amizade.

Aos companheiros Juscelino Odilon de Sousa, Severino Henrique da Costa e José Faustino da Silva Neto pela paciente e constante tarefa nas artes cibernéticas, tornando às prazerosas.

À todas as amizades conquistadas em Pernambuco: Anne, Bruno, Edilson, Samy, Juliana, Rennan, Thiago, Verônica, Doralice Falcão, Érika, Moacir, Cristiano, César, Marília, Dani, Nana, Socorro, Katarina, Hugo, Guto, Fred, Ellen, Joana D'Árc, Alcir, Dona Sônia, Gordo, Severino, Marquinho, Serginho, Seu Bené.

À Emepa-PB (Dr. Wandrick, Dr. Dimas Bandeira, Dr. Salvino) e ao pessoal de Pendência-PB (Dra. Carmen, Dra. Dalva, Pirralho, Sr. Martin, Roberto e Doralice et al.), Tacima-PB (Adriana, Semirames), São João do Cariri (Jacira, Carlo, Severino, Arakén, Cecília, Tobias), Sertânia (IPA, Dr. Gildo, André Chaves, Zaul, Maria e Aderaldo), pela dedicação e auxílio em boa parte da fase experimental.

Ao pessoal das Fazendas Pocinhos D'água e Mandacarú (Arnaldo, Marco, Silvonaldo, Maria José, Rita, Marcos e Jorge), do Engenho Cepo (Maria, José Rodrigo e Bernardo), em especial à Dr. Francisco Xavier de Moraes, Dona Ceres e Érica Paes Barreto Xavier de Moraes pela recepção carinhosa e consideração a mim dispensada durante minha passagem por Fazenda Nova e Vicência.

À Fernando e Marcelo Pioli, Valter, Carlinhos e Tarrafa pela convivência e colaboração quando em Jacutinga-MG.

Ao pessoal da UECE pela receptividade quando da minha estadia no Ceará.

Às secretárias do DMV (Irene, Édna e Vera), pela presteza e auxílio.

À Nutricell e equipe, pelos auxílios prestados.

Finalmente, a todas as cabras e ovelhas, que mesmo inocentemente, contribuíram de forma imprescindível para o meu desenvolvimento e evolução científica.

“Quem não sabe o que procura, não percebe quando encontra.”

(Autor desconhecido).

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	v
SUMÁRIO.....	vii
RESUMO.....	viii
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Embriologia do Aparelho Reprodutor.....	3
2.2 Ultra-som.....	5
2.3 Aplicações da Ultra-sonografia no Aparelho Genital Feminino.....	8
2.3.1 Exame dos ovários.....	8
2.3.2 Diagnóstico da gestação e da viabilidade fetal.....	10
2.3.3 Identificação do sexo fetal.....	14
3 REFERÊNCIAS.....	19
4 Identificação do sexo de fetos em úteros de cabras e ovelhas utilizando a ultra-sonografia.....	34
5 Sexagem fetal em ovelhas Santa Inês por ultra-sonografia.....	45
6 Determinação do período de migração do tubérculo genital em fetos ovinos das raças Damara, Santa Inês e ¾ Damara - Santa Inês.....	58
7 Determination of the genital tubercle migration in Morada Nova sheep fetuses by real time ultrasonography.....	70
8 Sexing of Dorper sheep fetuses derived from natural mating and embryo transfer by ultrasonography.....	83
9 Utilização da ultra-sonografia na sexagem de fetos da raça Anglo-nubiana pela identificação do tubérculo genital e da genitália externa.....	97
10 Early sexing of fetus of the Boer goat by transrectal ultrasonography.....	113
11 Early fetal sexing of dairy goats by ultrasonography.....	126
12 Accuracy of early fetal sex determination by ultrasonic assessment in goats.	144

Título: Diagnóstico precoce do sexo fetal de caprinos e ovinos pela ultra-sonografia.

Aluno: Maico Henrique Barbosa dos Santos

Orientador: Marcos Antonio Lemos de oliveira

RESUMO

Neste trabalho teve-se o objetivo de definir o melhor período para diagnosticar o sexo fetal nas espécies ovina e caprina pela ultra-sonografia em tempo real utilizando-se transdutor linear (6 e 8 MHz) por via transretal e convexo (5 e 7,5 MHz) por via transabdominal. Foram examinados 298 fetos de 223 ovelhas e 532 fetos de 334 cabras de diferentes raças, oriundos de monta natural e de transferência de embriões. No primeiro experimento foram examinados 64 úteros de ovinos e 108 de caprinos imersos em recipiente contendo água, obtendo-se acurácia de 90,6% na sexagem dos fetos ovinos e de 81,5% nos caprinos. Quanto à migração do tubérculo genital (TG) nos experimentos relativos à espécie ovina constatou-se que nos fetos originados de monta natural ocorre entre os dias 37 e 46 ($42 \pm 2,0$) de gestação na raça Santa Inês, 38 a 51 ($45,0 \pm 3,0$) dias na raça Damara, 36 a 45 ($39,2 \pm 2,3$) dias nos mestiços $\frac{3}{4}$ Damara-Santa Inês, 36 a 46 ($39,5 \pm 2,9$) dias na raça Morada Nova e de 38 a 48 ($43,0 \pm 2,8$) dias na raça Dorper. Nos fetos provenientes de transferência de embriões congelados, a migração do TG ocorre entre os dias 42 e 52 ($48,5 \pm 3,3$) de gestação na raça Morada Nova e de 36 a 58 ($46,1 \pm 4,7$) dias na raça Dorper, registrando-se que a migração do TG desses fetos é mais tardia ($P < 0,05$) do que naqueles de monta natural. Na espécie caprina, a migração do TG ocorre ente os dias 44 e 49 ($46,2 \pm 1,3$) de gestação nos fetos da raça Anglo-nubiana, entre o 43º e o 54º ($47,4 \pm 6,5$) dia nos da raça Boer, entre os dias 48 e 53 ($50,5 \pm 1,54$) nos mestiços, entre os dias 41 e 51 ($46,4 \pm 2,1$) nos da raça Alpina Americana e entre os dias 45 e 55 ($48,9 \pm 1,8$) nos da raça Saanen. A comparação efetuada entre as duas últimas raças evidenciou que a migração do TG é mais precoce ($P < 0,05$) nos fetos da

Alpina Americana. A acurácia da sexagem fetal dos exames repetidos, seja a intervalos de 12, 24 ou 48 horas, nas gestações simples foi de 100% em todas as raças caprinas avaliadas e de 100% em ovinos da raça Santa Inês, Damara, $\frac{3}{4}$ Damara-Santa Inês, e Dorper, sendo de 92,3% em fetos da raça Morada Nova provenientes de TE. Nas gestações múltiplas dos ovinos, a acurácia variou de 83% (dupla) a 100% (tripla) na raça Santa Inês, 50% (dupla proveniente de TE) a 92,9% (dupla proveniente de MN) na raça Morada Nova, sendo de 83% na raça Damara, 100% nos mestiços $\frac{3}{4}$ Damara-Santa Inês e 88,9% na raça Dorper,. Nos caprinos variou de 66,6% (tríplices) a 100% (duplas) na raça Anglo-nubiana, de 96,9% (duplas) a 100% (tríplices) na raça Boer, de 66,7% (tríplices) a 87,5% (duplas) na raça Alpina Americana, de 50% (quádrupla) a 80,9% (dupla) na raça Saanen, sendo de 75% nas gestações duplas dos fetos mestiços. Quanto ao exame único, a acurácia nas gestações simples, nos ovinos, foi de 100% nas raças Santa Inês, Morada Nova e Dorper. Nos caprinos foi de 100% na raça Anglo-nubiana, de 94,4% na raça Boer, de 85,7% na raça Alpina Americana, de 100% na raça Saanen e de 72% nas gestações dos fetos mestiços. Nas gestações múltiplas dos ovinos, somente a raça Santa Inês foi submetida a exame único, obtendo-se a acurácia de 85,7%. Já nos caprinos variou de 63% (tríplices) a 82,5% (duplas) na raça Anglo-nubiana, de 80,8% (duplas) a 100% (tríplices) na raça Boer, de 66,7% (tríplices) a 72,7% (duplas) na raça Saanen, sendo de 80% (duplas) na raça Alpina Americana. Nos fetos mestiços submetidos a exame único, a acurácia nas gestações duplas foi de 80% pela via transretal e de 55,3% pela via transabdominal. Os resultados permitem concluir que o método ultra-sonográfico de identificação do sexo de fetos caprinos e ovinos, visualizando o TG e a genitália externa, é eficiente a partir do 50º dia de gestação nos fetos ovinos originados de monta natural e a partir do 55º dia naqueles provenientes de transferência de embriões congelados, bem como nos fetos caprinos oriundos de monta natural. É também possível concluir que, nem sempre, a repetição de exames aumenta a acurácia da sexagem, seja porque o feto não se

posiciona adequadamente para permitir a visualização das estruturas responsáveis pela sexagem ou porque não é possível identificar, principalmente nas gestações múltiplas, o sexo de todos os fetos no mesmo exame. Finalizando, ainda é possível concluir que as gestações múltiplas comprometem geralmente a acurácia da sexagem fetal e que a experiência do operador é fundamental para minimizar e até mesmo eliminar a emissão de diagnósticos equivocados.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA
Tese de Doutorado em Ciência Veterinária
Recife, 11 de abril de 2006.

LISTA DE TABELAS

	Página
Publicação 1	
Tabela 1 Diagnósticos corretos e incorretos do sexo fetal em úteros, contendo gestações simples e duplas, de caprinos e ovinos provenientes de matadouro.....	38
Publicação 2	
Tabela 1 Identificação do sexo de fetos em fêmeas com gestação de 55 a 75 dias, através de exame ultra-sonográfico único.....	56
Publicação 3	
Tabela 1 Sexagem fetal em ovinos das raças Damara, Santa Inês e ¾ D-SI após monitoramento ultra-sonográfico diário, do 30º ao 60º dia de gestação.....	69
Publicação 4	
Table 1 Fetal sexing in sheep of red Morada Nova breed from natural mating after monitoring by ultrasonography with 48-h intervals from day 30 to 45 of pregnancy.....	82
Table 2 Fetal sexing in Morada Nova sheep, red and white varieties, from transfer of frozen/unfrozen embryos, after ultrasonography in 48-h intervals from day 30 to 55 of pregnancy.....	82
Publicação 5	
Table 1 Gender determination of Dorper sheep by ultrasonography monitoring from the 30 th to 60 th days of gestation at 48-h intervals (EI and EII) and after a single exam (EIII).....	96
Publicação 6	
Tabela 1 Sexagem fetal de caprinos da raça Anglo-nubiana após monitoramento ultra-sonográfico, do 40º ao 60º dia de gestação, em intervalos de 24 horas.	112
Tabela 2 Sexagem fetal de caprinos da raça Anglo-nubiana após exame ultra-sonográfico único de fêmeas entre o 50º e o 80º dia de	

gestação.....	112
---------------	-----

Publicação 7

Tabela 1	Fetal sexing in goats of Boer breed through daily ultrasonographic monitoring between the 40 th and 60 th gestational day.....	125
Tabela 2	Fetal sexing in goats of Boer breed, from embryo transference, through a single ultrasonographic exam between the 45 th and 60 th gestational day.....	125

Publicação 8

Table 1	Identificação of fetal sex in American Alpine goats by a single examination of female at a gestational age between 45 and 70 days.....	140
Table 2	Fetal sexing of American Alpine goats monitored every 12 hours between day 39 and day 57 of pregnancy.....	140
Table 3	Identificação of fetal sex in Saanen goats by a single examination of female at a gestational age between 47 and 77 days.....	141
Table 4	Fetal sexing of Saanen goats examined every 48 hours between day 40 and day 55 of pregnancy.....	141

Publicação 9

Table 1	Fetal sex identification by daily examinations between Days 45 to 60 of pregnancy.....	156
Table 2	Fetal sex determination by single examinations between Days 45 to 70 of pregnancy.....	156
Table 3	Fetal sex determination by single examinations between Days 100 to 120 of pregnancy.....	156

LISTA DE FIGURAS

	Página
Publicação 1	
Figura 1	Fetos do sexo masculino (A, B, C) evidenciando imagem hiperecólica do TG (tg) situado caudalmente ao cordão umbilical (cu), do prepúcio (p) e da bolsa escrotal (be). Fetos do sexo feminino (D, E, F) mostrando imagem hiperecólica do TG (tg) situado próximo à cauda (cd), da vulva (v) e das testas (t)..... 37
Figura 2	Relação entre a porcentagem de diagnósticos incorretos e o número de exames realizados para maximizar a acurácia do exame ultrasonográfico..... 39
Publicação 2	
Figura 1	Imagens do posicionamento do TG (↓) no feto macho (A) e (→) na fêmea (B). Feto macho (C) mostrando a bolsa escrotal (↓) e o prepúcio (↑) e outro feto fêmea (D) evidenciando a vulva (←)..... 56
Figura 2	Monitoramento diário da sexagem fetal levando em consideração o posicionamento do TG. O feto que apresentava o TG localizado caudalmente ao cordão umbilical era diagnosticado como macho e o que evidenciava o TG posicionado próximo à cauda era sexado como fêmea..... 57
Publicação 3	
Figura 1	Imagens de fetos do sexo feminino (A e B) evidenciando tubérculo genital (tg), cordão umbilical (cu), membros posteriores (mp), cauda (cd) e vulva (v). Imagens de fetos do sexo masculino (C e D) mostrando o tubérculo genital (tg), cordão umbilical (cu) e bolsa escrotal (be)..... 68
Figura 2	Monitoramento diário da sexagem fetal em ovinos das raças Damara, Santa Inês e ¾ D-SI levando-se em consideração o posicionamento do

TG.....	69
---------	----

Publicação 4

Figure 1	Imagens of a female fetus (A and C) depicting the genital tubercle (gt), umbilical cor (uc), rear limbs (rl) and nipples (n). Imagens of a female fetus (B and D), showing the genital tubercle (gt) near the umbilical cord (uc), scrotal bag (sb) and prepuce (p).....	80
Figure 2	Determination of fetal gender in Morada Nova fetuses from natural mating (NM) and embryo transfer (ET) by the determination of the location of the genital tubercle.....	81

Publicação 5

Figure 1	Location of the genital tubercle (gt↑) and umbilical cord (uc↖) in a male fetus (A) and a female fetus (B). Male fetus (C) showing the scrotal bag (sb↓) and prepuce (p↑). Female fetus (D) showing genital swelling (gs↙) and nipples (n↘↘).....	95
Figure 2	Gestational day (GD) in wich GT migration occurred for Dorper breed fetuses derived from embryo transfer (ET) and controlled natural mating (NM).....	96

Publicação 6

Figura 1	Imagens de fetos do sexo feminino (A e B), evidenciando tubérculo genital (TG), cordão umbilical (cu), membros posteriores (mp), cauda (cd) e vulva. Imagens de fetos do sexo masculino (C e D), mostrando o tubérculo genital (TG) próximo ao cordão umbilical (cu), bolsa escrotal e prepúcio.....	110
Figura 2	Monitoramento diário da sexagem fetal (n = 25) entre o 40º e o 60º dia de gestação, levando em consideração o posicionamento do TG.....	111

Publicação 7

Figure 1	Imagens of female fetus (A and B), highlighting the genital tubercle (gt), umbilical cord (uc), tail (t), genital swelling (gs) and nipples (n). Imagens of the male fetus (C and D), showing the genital tubercle (tg) close to the umbilical cord (uc), rear limbs (rl), scrotal bag (sb) and prepuce
----------	---

	(p).....	124
Figure 2	Gestational day (GD) in wich occurred the GT migration for Boer breed fetuses.....	124
	Publicação 8	
Figure 1	Ultrasound images of goat concepti. Male fetuses showing: A – genital tubercle (gt) and umbilical cord (uc); C – umbilical cord (uc), prepuce (p) and scrotal bag (sb). Female fetuses showing: B – genital (gt) and umbilical cord (uc); D – tail (t) and genital swelling (gs).....	142
Figure 2	Daily monitoring to determine the period of genital tubercle migration in American Alpine and Saanen goats.....	143
	Publicação 9	
Figure 1	Female fetuses (A and C) showing tail (T), genital tubercle (GT), umbilical cord (UC) and genital swelling (GS). Male fetuses (B and C) showing genital tubercle (GT), umbilical cord (UC) and scrotal bag (SB).....	155
Figure 2	Gestational day in wich the sex of fetuses was determined take into the GT migration.....	155

1. INTRODUÇÃO

A moderna produção pecuária deve ser fundamentada na exploração animal em condições de bem estar, respeito ao ambiente e com alta produtividade, visando o atendimento das necessidades da espécie humana (CASTRO et al., 2001).

O Nordeste detém, do efetivo total de 14.638, 95 milhões de ovinos e de 9.537, 439 milhões de caprinos, 55,06% do rebanho ovino e 93,41% do caprino (IBGE, 2002). Todavia, a atividade vem se intensificando em várias regiões, especialmente no Sudeste e Centro Oeste.

As possibilidades de crescimento do setor continuam muito promissoras face ao aumento do consumo interno de produtos de origem caprina-ovina e as mudanças das relações comerciais que podem resultar na abertura de novos mercados para exportação. Aliado a isto somam-se as características de rusticidade, capacidade de adaptação aos mais diferentes ecossistemas e da possibilidade concreta da atividade existir como um agro-negócio; envolvendo relações comerciais de leite, carne, pele e seus subprodutos, a caprino-ovinocultura consolida-se como um segmento importante para o desenvolvimento sócio-econômico do país. Por outro lado, a inexistência de dados sócio-econômicos e de caracterização das formas de produção tem impedido um avanço mais significativo de ações governamentais, principalmente no que se diz respeito a programas de capacitação e de crédito (BANDEIRA et al., 2004).

Apesar de numericamente expressivos, a grande maioria dos rebanhos de caprinos e ovinos do Nordeste apresenta resultados insatisfatórios de desempenho provocado por aplicações inadequadas de manejo e sanidade, concomitantemente com a ausência marcante de tecnologia que caracteriza seus sistemas de produção, interferindo dessa forma na produtividade.

A adequada reprodução dos rebanhos é um dos pontos iniciais da cadeia de eventos do processo produtivo. A ineficiência reprodutiva pode comprometer a lucratividade da

exploração por não permitir que o potencial produtivo máximo do rebanho seja atingido (BICUDO, 2003).

A utilização da ultra-sonografia na medicina humana data de 1940 e na medicina veterinária a partir de 1950, entretanto, somente no final da década de 70 é que a qualidade desta tecnologia sofreu grande impulso com a possibilidade da obtenção de imagens em tempo real (CHRISTOPHER e MERRIT, 1998). Os primeiros relatos sobre observações de fetos ovinos e caprinos foram realizados na década de 80 por Tainturier et al. (1983ab) e Yamaga e Too (1984). No Brasil, os primeiros registros sobre a utilização da ultra-sonografia em tempo real para diagnosticar a gestação em ovelhas e cabras datam da década de 90 com os trabalhos de Alves et al. (1991ab), Bernardi e Fagundes (1991), Alves et al. (1993).

Em pequenos ruminantes, a constatação do sexo fetal pode contribuir, antes de tudo, para o avanço de diversas áreas da pesquisa fundamental, visando, por exemplo, o diagnóstico precoce do sexo de fetos após a inseminação artificial com sêmen sexado, após a transferência de embriões com sexo pré-determinado ou de embriões produzidos *in vitro*.

Dentre as aplicações práticas desta biotécnica, pode-se destacar sua importância para a produção animal, particularmente em rebanhos leiteiros, por permitir um melhor planejamento tanto para adquirir quanto para comercializar animais do próprio rebanho (HAIBEL, 1990), podendo, na dependência do resultado, elevar ou diminuir o valor do animal examinado e facilitar a coordenação de ações que visem racionalizar produção e lucratividade.

Apesar do exposto, a difusão da ultra-sonografia para a sexagem fetal nos pequenos ruminantes, sobretudo para a aplicação em exploração comercial e em larga escala, ainda depende de maiores estudos e dedicação, no intuito de se obter uma maior precisão no diagnóstico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Embriologia do Aparelho Reprodutivo

Os sistemas reprodutores masculino e feminino apresentam a mesma origem embrionária (MARTIN MARTIN e GARCIA ALFONSO, 1985). As gônadas são primitivamente formadas por células germinativas (gonócitos) derivadas do interstício gonadal localizado no saco vitelino, de onde migram para a região mesenquimal, chamada crista gonadal (NASCIMENTO e SANTOS, 1997).

A formação da crista gonadal resulta da proliferação do epitélio celômico e da agregação do mesênquima subjacente a esta região (RÜSSE, 1991) e a partir de então ocorre a diferenciação das gônadas em testículos ou ovários num processo que depende dos cromossomos sexuais. Nos embriões de ambos os sexos, as cristas gonadais surgem inicialmente sob a forma de uma pequena proeminência longitudinal na superfície do celoma, a qual está localizada entre a parede do corpo e os órgãos internos (MICHEL, 1986), ao nível dos mesonéfrs. Esta pequena proeminência, também conhecida como rins temporários, forma os ductos eferentes no sexo masculino, enquanto que no feminino existem apenas vestígios rudimentares (SCHNORR, 1989).

Entre o 35º e o 40º dia de gestação, o conceito ovino e caprino é, do ponto de vista anatômico, sexualmente indefinido e ambivalente (BÜRSTEL, 2002). A determinação do sexo ocorre no momento da fecundação e influencia o desenvolvimento da gônada indiferenciada. Acredita-se que o fator de diferenciação testicular (TDF), gene localizado no cromossomo Y, conhecido como SRY, corresponde à região determinante do sexo do cromossomo Y. Sendo assim, no caso dos cromossomos sexuais XY, o Y induz a formação dos testículos, determinando o sexo gonádico masculino (WILKENS, 1982).

Com a diferenciação das gônadas em testículos, ocorre formação dos túbulos seminíferos e das células de Leydig, responsáveis pela secreção de testosterona. Esta estimula tanto a diferenciação do sistema urogenital primitivo em próstata, pênis e bolsa escrotal quanto o desenvolvimento dos órgãos sexuais externos masculinos (SCHNORR, 1989).

No caso das células primordiais possuem apenas cromossomos sexuais XX, as gônadas indiferenciadas desenvolvem-se em ovários e estabelecem o sexo gonádico feminino (WILKENS, 1982).

O desenvolvimento das vias genitais internas masculinas ocorre a partir dos ductos de Wolf ou ductos mesonéfricos que surgem sob estímulo hormonal da testosterona produzida pelas células intersticiais de Leydig. Parte desse hormônio é metabolizada em diidrotestosterona que estimula o seio urogenital a diferenciar-se nos órgãos genitais masculinos externos. As células indiferenciadas de suporte, presentes na gônada masculina, secretam o Fator Inibidor de Müller (MIF) que inibe o desenvolvimento dos ductos paramesonéfricos, também chamado de ductos de Müller. A genitália interna feminina desenvolve-se na ausência do estímulo da testosterona, não ocorrendo o desenvolvimento dos ductos mesonéfricos e sim dos ductos paramesonéfricos por não haver produção de MIF, enquanto o seio urogenital forma os órgãos sexuais externos femininos devido à ausência da diidrotestosterona (NASCIMENTO e SANTOS, 1997; MOORE e PERSAUD, 2000).

O desenvolvimento embrionário da genitália externa está relacionado com a porção mais externa do seio urogenital e do mesênquima circundante (MARTIN MARTIN e GARCIA ALFONSO, 1985). Ao formarem-se as pregas corporais, o mesoderma lateral progride lateral e ventralmente até a cloaca para originar o componente mesodérmico da parede ventral do abdome. Em torno da membrana cloacal este mesoderma forma três estruturas: o tubérculo genital (extremo cranial da membrana cloacal), as pregas cloacais (lateralmente à membrana cloacal) e as eminências genitais ou labioescrotais (lateralmente às

pregas cloacais). A fusão do septo uroretal (futura musculatura perineal) com a membrana cloacal resulta na divisão desta em membrana anal e urogenital, com conseqüente desenvolvimento das pregas anais e uretrais (RÜSSE e GRUNERT, 1993). Após o rompimento das membranas anal e urogenital formam-se, respectivamente, os orifícios anal e urogenital. No embrião fêmea, a uretra e a vagina abrem-se em uma cavidade comum, chamada de vestíbulo vaginal (NODEN e DE LAHUNTA, 1990).

No macho, sob a influência do hormônio diidrotestosterona produzido pela gônada fetal, o tubérculo genital sofre um acentuado crescimento e assume a forma cilíndrica que origina o pênis. No embrião do sexo feminino, devido à ausência de andrógenos testiculares e a ação provável de esteróides maternos, placentários e ovarianos fetais, o tubérculo genital desenvolve-se pouco e forma o clitóris (WILKENS, 1982; SCHNORR, 1989).

Nas fêmeas, o seio urogenital permanece curto e ao se dilatar origina o vestíbulo vaginal (MICHEL e SCHWARZE, 1970). As pregas urogenitais permanecem separadas para originar os lábios vulvares, cobrindo o tubérculo genital situado no vestíbulo. Com o alongamento do tronco, as eminências genitais situam-se cranialmente ao tubérculo genital (NODEN e DE LAHUNTA, 1990). Nos machos e nas fêmeas, as duas saliências ao redor das pregas uretrais, saliências labioescrotais, irão participar na formação da vulva e do escroto (WILKENS, 1982; SCHNORR, 1989).

2.2 Ultra-Som

Em pequenos ruminantes, a ultra-sonografia vem sendo utilizada há muitos anos para diagnosticar a gestação e, mais recentemente, tem sido empregada, com sucesso, no exame clínico de afecções do sistema cardiovascular (OLSSON et al., 2001), no diagnóstico de anormalidades do úbere (ANDREASEN et al., 1993; FRANZ et al., 2001) e dos órgãos reprodutivos femininos (JANETT et al., 2001) e masculinos (AHMAD et al., 1993).

O ultra-som emite uma frequência superior a 20 MHz que não é captado pelo ouvido humano. Quando o transdutor do ultra-som é pressionado sobre a pele ou a mucosa, através da qual será efetuado o exame, os sons emitidos refletem-se nos órgãos ou estruturas internas do paciente e retornam como ecos sonoros que são recebidos pelo mesmo transdutor e transferidos para o equipamento que está conectado. Neste, os sons, que não são prejudiciais ao organismo, são eletronicamente modificados e transformados em imagens de tempo real que podem ser imediatamente visualizadas na tela de um monitor (CHALHOUB et al., 2004).

O conjunto responsável pela produção e captação das ondas ultra-sonográficas é constituído por um circuito eletrônico oscilador, um amplificador de potência e um transdutor (CHRISTOPHER e MERRIT, 1998). O transdutor é composto por cristais piezelétricos responsáveis pela emissão das ondas ultra-sônicas e pela captação das ondas refletidas. O elemento piezelétrico é excitado durante um período muito curto de um a dois segundos, provocando um impulso ultra-sonoro de dois ou três ciclos. Com o objetivo de captar os ecos, o transdutor funciona como um sensor ultra-sonográfico que, após cada pulso emitido, recebe os ecos durante 0,25 ms e faz uma pausa de 0,75 ms, antes de iniciar um outro ciclo (CHEUICHE, 2000).

Fundamentalmente, as produções de imagens ecográficas ocorrem através da emissão de ondas ultra-sonoras pelos cristais piezelétricos que penetram nos tecidos. O eco refletido pelas barreiras das diferentes estruturas é captado pelo transdutor, conduzido até um receptor e depois a um amplificador de sinais elétricos, que serão transmitidos a um tubo de raios catódicos com a definição de imagem numa tela de vídeo (NEVES, 1991). O sistema de ultra-som em tempo-real emite ondas sonoras de alta frequência que refletem as interfaces dos tecidos, caracterizadas por impedâncias acústicas diferentes, sendo exibidas no monitor com várias tonalidades da cor cinza (CHALHOUB et al., 2004).

O aspecto fundamental da obtenção de imagens com ultra-som, consiste na exibição em tempo real em escala de cinza de modo B, em que se usam as variações na intensidade ou brilho para indicar os sinais refletidos de amplitude diferente. Dessa forma, para gerar uma imagem bidimensional (2D) são enviados pulsos múltiplos de ultra-som abaixo de uma série de linhas de varredura sucessivas, construindo uma representação 2D de ecos que surgem do objeto sob varredura. Sendo assim, quando a imagem de ultra-som é exibida num fundo negro, os sinais de maior intensidade aparecem brancos, a ausência de sinal em negro e os sinais de intensidade intermediária com matizes de cinza. Portanto, se o feixe de ultra-som for movido com relação ao objeto em exame e a posição do sinal refletido for arquivada, resulta uma imagem 2D, com as partes mais brilhantes indicando estruturas que refletem mais a energia sonora transmitida de volta para o transdutor (CHRISTOPHER e MERRIT, 1998).

De acordo com a capacidade do tecido em absorver ou refletir as ondas sonoras, na avaliação das imagens ultra-sonográficas são utilizados os termos anecóico, hiperecóico e hipoecóico (BUCKRELL, 1988; CHRISTOPHER e MERRIT, 1998). As imagens anecóicas são escuras e oriundas dos líquidos que não refletem as ondas sonoras, as hiperecóicas são brancas e provêm de tecidos com grande capacidade refletora e as hipoecóicas podem ser de maior ou menor intensidade, variando nas tonalidades da cor cinza (BUCKRELL et al., 1986). As imagens são traduzidas em duas dimensões, permitindo identificar placentomas, movimentos fetais, fluídos e batimentos cardíacos do feto (ISHWAR, 1995).

Para a obtenção de uma boa resolução de imagem ultra-sonográfica e que contribua para alcançar bons diagnósticos, alguns fatores são essenciais para a eficiência do exame. O sistema utilizado (linear, setorial mecânico ou convexo), frequência do transdutor (3,0; 3,5; 5,0; 6,0; 7,5 ou 8,0 MHz), período de gestação (primeiro, segundo e terço final da gestação), modalidade do exame (transretal, transabdominal ou transvaginal), condição da área onde é feita a varredura (tricotomizada ou não, se há interferência de ar), posição da fêmea (decúbito

ou estação), duração do exame, bem como se realizado com jejum prévio (para que não haja interferência das fezes), raça e paridade das fêmeas (animais grandes, maduros e múltiplos podem fornecer algumas dificuldades no diagnóstico precoce de gestação pelo reto) e a experiência do operador são parâmetros importantes e que merecem minuciosa avaliação (BUCKRELL, 1988). Para melhorar a qualidade da imagem, um gel inócuo, inodoro e hidrossolúvel deve ser aplicado sobre o transdutor (CHALHOUB et al., 2004).

2.3 Aplicações da Ultra-sonografia no Aparelho Genital Feminino

2.3.1 Exame dos ovários

A ultra-sonografia é uma técnica que, nos pequenos ruminantes, permite também a realização de estudos da dinâmica do desenvolvimento folicular. A técnica foi utilizada por Schrick et al. (1993), Ravindra et al. (1994) e Bartlewski et al. (1998) para pesquisar o ciclo estral em pequenos ruminantes. Mais recentemente, Melo Filho (2002), Cruz (2003) e Tenório Filho (2003) lançaram mão da técnica para estudo da dinâmica folicular na espécie caprina. Em programas de transferência de embriões (TE) a ultra-sonografia dos ovários permite controlar, antes da colheita dos embriões, a eficiência do tratamento superovulatório (McBRIDE-JOHNSON et al., 1994; KAULFUSS et al., 1995; KÜHHOLZER et al., 1998).

Bartlewski et al. (1998), pesquisando o desenvolvimento de estruturas ovarianas até o 30º dia da gestação, em ovinos, verificaram que após esse período o estudo ultra-sonográfico é dificultado pelo útero gravídico em constante desenvolvimento. Durante a gestação ocorreu uma supressão do desenvolvimento folicular e nas gestações simples, o desenvolvimento do feto ocorreu geralmente ipsi-lateralmente ao corpo lúteo gravídico.

Kähn (1991) analisou ultra-sonograficamente o crescimento e desenvolvimento de folículos e corpos lúteos múltiplos em animais superovulados. Kaulfuss et al. (1995) observaram em ovinos da raça Merino, os ovários após a indução do estro. A visualização de

ambos os ovários foi possível em 90% dos animais durante o estro, enquanto que em apenas 60% dos animais oito dias após. Riesenber (1997) conseguiu visualizar os ovários de ovinos à ultra-sonografia em 74,2% dos casos. Kühholzer et al. (1995) observaram ambos os ovários de ovinos da raça Merino e de cruzamentos com diversas raças austríacas após o tratamento dos animais com Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG).

Em caprinos, a visualização dos ovários após a superovulação foi possível em 80,4% (DORN et al., 1989). Riesenber et al. (2001), avaliando animais entre o 2º e o 4º dia de tratamento superovulatório, conseguiram visualizar ovários em 98,6% dos casos. McBride-Johnson et al. (1994) visualizaram folículos em 62,5% das cabras após a superovulação.

O exame é influenciado pela raça, pelo desenvolvimento corporal e pelo número de partos em ovinos (KAULFUSS et al., 1995), além dos fatores relacionados com a obtenção de imagem, como qualidade do aparelho de ultra-som, frequência utilizada, tipo de transdutor, quantidade de cristais contidos no transdutor e via de exame utilizada.

Para avaliação ovariana, geralmente são utilizadas sondas lineares de 7,5 MHz (DORN et al., 1989; KÄHN, 1991; KAULFUSS et al., 1994/1995; McBRIDE-JOHNSON et al., 1994; KÜHHOLZER et al., 1995/1998; RIESENBERG et al., 2001). Ovários inativos são de difícil visualização em ovinos (KÄHN, 1991; KAULFUSS et al., 1995). Folículos terciários são visualizados como estruturas arredondadas a partir de 2 mm (DORN et al., 1989; SCHRICK et al., 1993; McBRIDE-JOHNSON et al., 1994; RAVINDRA et al., 1994; KÜHHOLZER et al., 1998), até 3 mm de diâmetro (BARTLEWSKI et al., 1998; RIESENBERG et al., 2001).

Corpos lúteos podem ser vistos de forma compacta ou apresentando um espaço central preenchido com líquido, originando, neste caso, uma imagem ultra-sonográfica em forma de anel (SCHRICK et al., 1993; KAULFUSS et al., 1995; BARTLEWSKI et al., 1998).

A maioria dos trabalhos de ultra-sonografia ovariana em ovinos foi realizada por via transretal. Para tal, utiliza-se uma peça de fixação e prolongamento da sonda que permite uma

melhor manipulação durante o exame por via transretal (SCHRICK et al., 1993; RAVINDRA et al., 1994). Kaulfuss et al. (1995) recomendam que a ultra-sonografia por via transretal seja realizada com o animal sentado ou em decúbito ventral porque melhora a visualização em 75% dos animais e com os animais em posição de estação, a visualização de ambos os ovários foi somente possível em apenas 50%. Por outro lado, Ravindra et al. (1994) e Riesenber (1997), trabalhando com ovinos e McBride-Johnson et al. (1994) e Riesenber et al. (2001), com caprinos, optaram em examinar os ovários com os animais posicionados em estação.

Na opinião de Kaulfuss et al. (1994), os exames pelas vias transvaginal ou transabdominal permitem visualizar os ovários esporadicamente; em contrapartida, Tenório Filho (2003) afirmou que o exame transvaginal é mais eficiente para monitorar a dinâmica folicular na espécie caprina porque provoca menos desconforto do que o exame retal, além de oferecer melhor qualidade de imagem.

2.3.2 Diagnóstico de gestação e da viabilidade fetal

A ultra-sonografia em tempo real substituiu outros métodos de diagnóstico de gestação em pequenos ruminantes, alguns já em desuso tais como, emprego de rufião, exame do muco cervical, palpação abdominal, biópsia e esfregaço vaginal, laparoscopia, determinação da concentração de progesterona, radiografia, scan - A; e outros ainda empregados, como é o caso da observação do desenvolvimento da glândula mamária e do efeito doppler. (BOSTEDT e DEDIE, 1996; BICUDO et al., 2004; CAVALCANTI NETO et al., 2004; CHALHOUB et al., 2004; FREITAS et al., 2004; LEITE et al., 2004; LIMA et al., 2004; NEVES et al., 2004; SOUSA et al., 2004; TRALDI et al., 2004). É um método de rápida execução que, além da gestação, permite outras aplicações importantes (WHITE et al., 1984; DAVEY, 1986; GARCIA et al., 1993; KÄHN et al., 1993; HESSELINK e TAVERNE, 1994; KAULFUSS et al., 1999; CHALHOUB et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2004; SANTOS et al., 2004).

Nenhum transdutor apresenta o mesmo desempenho durante todas as fases da gestação, sendo a data de visualização das diferentes características do conceito muito variável (KÄHN, 1994). A escolha do transdutor, da frequência, bem como da via de acesso depende do período de gestação e do objetivo do diagnóstico, como determinar somente uma gestação ou realizar uma quantificação fetal (CHALHOUB e RIBEIRO FILHO, 2002). Kähn et al. (1993) recomendam que a escolha do tipo de exame deva ser critério adotado por cada operador, conforme as condições do rebanho e da propriedade. Do equipamento irá depender a qualidade e a resolução das imagens obtidas, o que é importante para diagnósticos diferenciais entre processos fisiológicos e patológicos como mucometra, hidrometra, morte embrionária e morte fetal, dentre outros (HESSELINK e TAVERNE, 1994).

O útero gravídico localiza-se cranio-ventralmente à bexiga urinária e em corte sagital, apresenta geralmente várias áreas ecogênicas de, aproximadamente, 10 mm de diâmetro (GEARHART et al., 1988; GARCIA et al., 1993; KAULFUSS et al., 1996a). Normalmente, o diagnóstico de animais não-prenhes é mais difícil do que o de animais gestantes (SANTOS et al., 2004), podendo ocorrer, em alguns casos, equívocos na identificação da gestação, especialmente quando o operador é inexperiente (GEARHART et al., 1988).

O primeiro indício para diagnosticar uma gestação é a presença de líquido intra-uterino detectável em algumas ovelhas entre o 13º e o 19º dia (GARCIA et al., 1993; SCHRICK e INSKEEP, 1993; KAULFUSS et al., 1996a, b) e na maioria dos animais entre o 17º e o 25º dia de gestação (GEARHART et al., 1988). Nesse período o percentual de acerto é da ordem de 95% (KAULFUSS et al., 1996a). Vale a pena salientar que a simples presença de líquido intra-uterino não é suficiente para confirmar um diagnóstico de prenhez, uma vez que este líquido pode ser proveniente da fase estrogênica (AZEVEDO et al., 2001; KÄHN, 1994) ou até devido a alguma patologia uterina, como hidrometra (LÊGA e TONIOLO, 1999; MORAES et al., 2005) ou mucometra (MORAES et al., 2005).

Segundo Kähn (1991), os exames realizados antes do 20º dia da cobertura devem ser evitados em decorrência do risco de mortalidade embrionária ser maior nesse período. Existe recomendação de se diagnosticar a prenhez a partir do 21º dia (GARCIA et al., 1993) ou do 25º (SCHRICK e INSKEEP, 1993) em decorrência da acurácia do exame ser maior a partir deste período (ALAN et al., 1994), bem como em consequência da possibilidade de visualização do embrião aderido à parede uterina (KAULFUSS et al., 1996a; SCHRICK e INSKEEP, 1993) e da identificação dos envoltórios fetais, sob forma de uma linha que circunda o embrião (KÄHN, 1991). Ao mesmo tempo inicia-se o desenvolvimento dos placentomas, identificados como milimétricas protuberâncias ecogênicas sob forma de botão (KAULFUSS et al., 1996a). O diagnóstico torna-se mais fácil à medida que ocorre um aumento dos movimentos fetais (GEARHART et al., 1988) e posteriormente, com o início do processo de ossificação, entre 52 e 66 dias de gestação (KÄHN et al., 1992).

Tanto Kähn (1991) quanto Kaulfuss et al. (1996b) recomendam diagnosticar a gestação até o 35º dia por via transretal, com o animal em posição de estação. A partir desse período recomenda-se a realização do exame por via transabdominal, tanto com o animal em posição de estação (GEARHART et al., 1988; ALAN et al., 1994; HESSELINK e TAVERNE, 1994; KAULFUSS et al., 1996a/1999) quanto em posição sentada (DAVEY, 1986; KANDIL et al., 1997). A acurácia desse diagnóstico é de 99% a partir do 50º dia (DAVEY, 1986). Uma comparação dos dois métodos revelou que ambos permitem a obtenção de resultados semelhantes (KÄHN et al., 1993; KAULFUSS et al., 1996b).

À medida que a gestação progride, o útero gravídico se estende cranialmente e ventralmente, o que pode acarretar erros de diagnóstico, principalmente quando a data exata de cobertura ou de inseminação não é conhecida (KÄHN et al., 1993). A partir dos 60 dias de gestação o útero gravídico acomoda-se sobre a parede abdominal, sendo, portanto, mais indicado o exame transabdominal (DAVEY, 1986; KAULFUSS et al., 1996b/1999). Erros de

diagnóstico de gestação podem ocorrer na presença de patologias uterinas (GEARHART et al., 1988; KÄHN et al., 1993; KAULFUSS et al., 1996ab).

Segundo Kähn et al. (1992), Kaulfuss et al. (1996a) e Martinez et al. (1998), a quantificação fetal pode ser obtida entre os dias 25 e 40 de gestação por via transretal com sonda linear de 5 MHz. Kaulfuss et al. (1996a) obtiveram resultados a partir do 20º dia de gestação, sendo que a quantificação dos fetos foi possível a partir do 26º dia. Todavia, nos trabalhos de Gearhart et al. (1988), isso apenas foi possível a partir de 31º dia de gestação.

Kaulfuss et al. (1996a) afirmaram ainda que quanto maior o número de fetos em uma gestação, menor é o tempo de gestação necessário para se realizar o diagnóstico. Entretanto, a constatação do número de fetos por animal gestante torna-se mais difícil à medida que o número de fetos aumenta.

O diagnóstico de gestações simples e múltiplas pode ser obtido sem maiores dificuldades (WHITE et al., 1984), mas é freqüente ocorrerem erros na determinação do número exato de fetos (WHITE et al.; 1984; GEARHART et al., 1988; HAIBEL, 1990), uma vez que um mesmo feto pode ser considerado duas vezes (WHITE et al., 1984), principalmente quando o exame é feito bilateralmente, por via transabdominal. Davey (1986) verificou que o volume líquido é bem maior em gestações gemelares, o que considera ser um excelente critério para o diagnóstico diferencial entre gestações simples e duplas.

A partir do 40º dia da gestação, a determinação do número de fetos torna-se mais fácil e a precisão aumenta (WHITE et al., 1984; HAIBEL, 1990; KÄHN et al., 1992). Após o 100º dia, a quantificação fetal torna-se bem mais difícil (WHITE et al., 1984; DAVEY, 1986; KANDIL et al., 1997). Scheerboom e Taverne (1985) e Chaves Moreno et al. (1996) recomendam a partir desse período de gestação, o uso de transdutores com freqüências de 3,0 a 3,5 MHz. No segundo terço da gestação torna-se possível examinar vários órgãos, tanto em fetos de ovinos quanto de caprinos (SCHEERBOOM e TAVERNE, 1985; AIUMLAMAI et

al., 1992; CHAVEZ MORENO et al., 1996). Kaulfuss et al. (1996a) constataram essa possibilidade a partir do 30º dia de gestação. Além de tudo podem ser observados, com boa resolução, os ossos do crânio, o coração, o estômago, o cordão umbilical e outros ossos, o que permite correlacionar esses achados com a idade do feto (KÄHN et al., 1992).

Vários fatores podem ser considerados para avaliação da viabilidade fetal, dentre eles, os de maior relevância são movimentos do concepto e batimentos cardíacos (KANDIL et al., 1997). Ecogenicidade do líquido intra-uterino e da estrutura do concepto também são fatores a serem considerados quando se refere à viabilidade fetal.

2.3.3 Identificação do sexo fetal

A sexagem fetal através da ultra-sonografia baseia-se na localização e diferenciação da genitália externa (MÜLLER e WITTKOWSKY, 1986; CURRAN et al., 1989). A estrutura anatômica do feto que possibilita este diagnóstico pelo ultra-som é denominada de tubérculo genital - TG (CURRAN et al., 1989; COUGHBROUGH e CASTELL, 1998). Em bovinos, o TG pode ser identificado como uma estrutura constituída de dois lóbulos alongados, com aparência semelhante a duas barras paralelas ovais que refletem as ondas ultra-sônicas que lhes são dirigidas de forma intensiva (CURRAN et al., 1989).

Em eqüinos, o diagnóstico pode ser efetuado entre o 55º e o 75º dia de gestação (MERKT et al., 1999; MERKT e MOURA, 2000) e nos bovinos pode ser determinado a partir do 50º dia (CURRAN, 1992; STROUD, 1996), ressaltando-se que o exame no 60º dia confere maior precisão no resultado (BARROS e VISINTIN, 2001). Ainda na mesma espécie, a sexagem tem sido utilizada visando provocar a interrupção de gestações de fetos do sexo masculino nas primeiras semanas do desenvolvimento com finalidade de obter um aumento da proporção de nascimentos de fêmeas em rebanhos leiteiros (FERNANDES et al., 2002). A

acurácia dessa técnica é próxima de 100%, tanto em bovinos (GREGORY et al., 1995; VIANA et al., 2000; BARROS e VISINTIN, 2001) quanto em eqüinos (MERKT et al., 1999).

Aos 25 dias de gestação, embriões ovinos apresentam, macroscopicamente, uma discreta elevação entre os brotos dos membros posteriores, indicando a formação do TG. Entre o 28º e o 30º dia, o TG encontra-se mais proeminente e a partir do 34º dia já é possível identificar o sexo do embrião. Com o desenvolvimento do corpo do embrião e a migração do TG em direção ao umbigo nos machos e à cauda nas fêmeas, tem-se a diferenciação deste órgão, respectivamente, em pênis e clitóris (SCHNORR, 1989). Portanto, a partir deste período, a distância compreendida entre o ânus e o TG, será maior no macho do que na fêmea (REICHENBACH et al., 2004).

A visualização do TG pelo ultra-som é descrita como sendo simples pelo fato de se tratar de uma estrutura anatômica hiperecótica (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998). Os fetos são considerados machos quando o TG encontra-se imediatamente caudal ao umbigo e são diagnosticados como fêmeas, quando se localiza abaixo da cauda (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998; NAN et al., 2001). Para o diagnóstico de fetos machos pode-se também tomar como base, a presença do prepúcio caudal ao umbigo e/ou a presença da bolsa escrotal, geralmente de aparência triangular, entre os membros posteriores (BÜRSTEL et al., 2001a).

Movimentos fetais, posicionamento desfavorável, membros cruzados ou posicionamento do cordão umbilical entre os membros, além de dificuldades no exame de animais obesos, são os principais fatores que podem dificultar a visualização do TG em bovinos (BARROS e VISINTIN, 2001). Além do mencionado, nos fetos ovinos e caprinos do sexo feminino, o posicionamento da cauda do feto pode dificultar ou mesmo impedir a visualização do TG (BÜRSTEL et al., 2001ab; NAN et al., 2001).

Em pequenos ruminantes, a identificação do sexo fetal através da ultra-sonografia já é possível por volta do 40º dia de gestação utilizando o TG como parâmetro. Todavia, é

recomendável entre o 50° e o 58° dia, podendo ser também efetuada até o 64° dia, mas com uma precisão diagnóstica bastante inferior (BÜRSTEL, 2002). Além da influência do período de gestação, outros fatores como espécie, raça, idade e condição corporal da matriz podem determinar variações na acurácia do diagnóstico (REICHENBACH et al., 2004). O melhor período para o exame irá depender também da qualidade do equipamento, frequência e via utilizada. Todavia, Coubrough e Castell (1998) consideram um período ideal entre o 60° e o 69° dia de gestação, enquanto Nan et al. (2001) entre o 65° e o 100° dia. Bürstel et al. (2001ab) consideram melhor adotar dois períodos distintos de exame entre o 50° e o 56°, assim como entre o 66° e o 70° dia de gestação, o que permite um bom diagnóstico, mesmo em se tratando de gestações múltiplas.

A identificação do sexo fetal em ovinos foi obtida pela primeira vez por Coubrough e Castell (1998). Esses autores examinaram 29 fêmeas com gestações simples, por via transretal, inicialmente em posição de estação, entre o 60° e o 69° dia. Entretanto, conforme o posicionamento fetal, os animais eram examinados em decúbito. Bürstel et al. (2001ab), trabalhando com gestações de até quatro fetos entre o 50° e 70° dia de gestação, bem como Nan et al. (2001), examinando cinco animais diariamente, do 50° ao 130° dia, recomendam que o exame seja realizado com os animais em estação, pelo flanco direito.

Os transdutores utilizados possuem a frequência de 5 MHz (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998; BÜRSTEL et al., 2001ab; NAN et al., 2001). A acurácia da sexagem fetal por via transretal na ovelha com gestação simples é de 89% e em 7% dos animais examinados, a identificação do sexo não foi possível (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998). Em pequenos ruminantes, a determinação do número de fetos pela ultra-sonografia nos casos de gestação múltipla com mais de três fetos é extremamente incerta (GEARHART et al., 1988; HAIBEL, 1990), sendo recomendado proceder à determinação do sexo fetal apenas em gestações simples ou nas múltiplas com menos de quatro fetos. Nas gestações múltiplas, o

mapeamento dos fetos é mais demorado e complicado porque precisam ser visualizados vários planos para que o posicionamento do TG, em todos os fetos, possa ser determinado com precisão (BÜRSTEL, 2002).

A técnica da ultra-sonografia transabdominal resulta em 78% (NAN et al., 2001) e 86% (BÜRSTEL et al., 2001a) de diagnósticos corretos em ovinos. Em caprinos, a acurácia é de 92% (BÜRSTEL et al., 2001a; BÜRSTEL, 2002). Em 8% das ovelhas examinadas pela via transabdominal, o diagnóstico do sexo fetal não foi possível (BÜRSTEL, 2002).

O grau de dificuldade para sexagem é controvertido. Se por um lado tem sido descrito ser mais fácil diagnosticar machos (COUGHBROUGH e CASTELL, 1998; BÜRSTEL et al., 2001), por outro existe relato de que o sexo fetal não influencia na acurácia do diagnóstico, sendo de 88,5% nos casos de fetos masculinos e de 88,9% no de fetos femininos (NAN et al., 2001). Além do sexo, a acurácia do diagnóstico varia conforme o equipamento de ultra-sonografia, experiência, habilidade e motivação do operador (BARROS e VISINTIN, 2001). Outros fatores envolvidos são o comportamento do animal durante o exame, condições anatômicas do útero, idade e raça dos animais, além da necessidade de informações precisas sobre as datas de acasalamento ou de inseminação artificial (BÜRSTEL, 2002).

No diagnóstico transabdominal, o número de fetos também influencia os resultados, sendo de 88% de acerto nas gestações simples e de 83% nas múltiplas (BÜRSTEL, 2002). Contudo, em condições de campo, o resultado de 64% de diagnósticos corretos, tanto para ovinos quanto para caprinos, é inferior ao de 86% obtido experimentalmente (BÜRSTEL, 2002).

Recomenda-se, para trabalho desenvolvido a campo, a realização de dois exames consecutivos, sendo o primeiro entre o 50º e o 58º dia e o segundo entre o 65º e o 70º dia de gestação para permitir que a porcentagem de diagnósticos corretos alcance o patamar próximo de 80% (BÜRSTEL, 2002).

O diagnóstico pré-natal do sexo pode ser incorporado na rotina do diagnóstico de gestação dos pequenos ruminantes por proporcionar um avanço na qualidade da assistência veterinária, especificamente no âmbito da reprodução animal. Entretanto, é preciso considerar que a sexagem nessas espécies requer equipamentos com boa resolução e pessoal bem qualificado. Outro fator que limita a aplicação do procedimento a campo é a hipótese da necessidade de exames repetidos para a obtenção de um maior grau de segurança no diagnóstico, principalmente nos casos de gestações múltiplas. A difusão da identificação do sexo fetal em caprinos e ovinos irá depender, principalmente da eficiência e do custo em relação ao retorno do diagnóstico (REICHENBACH et al., 2004).

3. REFERÊNCIAS

AHMAD, N.; NOAKES, D.E.; MIDDLETON, D.J. Use of ultrasound to diagnose testicular degeneration in a goat. **Veterinary Record**, v.132, n.17, p.436-439, 1993.

AIUMLAMAI, S.; FREDRIKSSON, G.; NILSFORS, L. Real-time ultrasonography for determining the gestational age of ewes. **Veterinary Record**. 131, 560 – 562, 1992.

ALVES, L.C.; NEVES, J.P.; LUZ, S.L.N. Aspectos do diagnóstico de gestação por ultrasonografia na ovelha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, IX Belo Horizonte 19991. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991a, v.II, p.398.

ALVES, L.C.; NEVES, J.P.; LUZ, S.L.N. Avaliação da ultra-sonografia abdominal para o diagnóstico de gestação em ovelhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, IX Belo Horizonte 19991. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991b, v.II, p.397.

ALVES, L.C.; NEVES, J.P.; LUZ, S.L.N. Parâmetros ultra-sonográficos para determinação da idade gestacional em ovelhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, X Belo Horizonte 19993. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1993, v.II, p.377.

ALAN, M.; TIMURKAN, T.; GÜLYÜZ, F. Pregnancy diagnosis by real-time ultrasonography in ewes. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, v.18, p.161-163, 1994.

ANDREASEN, C.B.; HUBER, M.J.; MATTOON, J.S. Unilateral fibroepithelial hyperplasia of the mammary gland in a goat. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.202, n.8, p.1279-1280, 1993.

AZEVEDO, A. et al. Momento de detecção ultra-sonográfica de algumas características do conceito ovino Santa Inês do 20º ao 46º dia de prenhez. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.2, p.147-1148, 2001.

BANDEIRA, D. A. et al. Aspectos gerais da caprino-ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivos e reprodutivo In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p.1-8.

BARROS, B.J.P.; VISINTIN, J.A. Ultrasonic control of early pregnancies, embryonic and fetal mortalities and fetal sex in zebu cattle. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.38, n.2, p. 74-79, 2001.

BARTLEWSKI, P.M. et al. Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, 113, 275 – 285, 1998.

BERNARDI, M.L.; FAGUNDES, M.D. Diagnóstico de gestação em caprinos através de ultra-som. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, IX Belo Horizonte 1991. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991b, v.II, p.396.

BICUDO, S. D. **O diagnóstico ultra-sonográfico de gestação em ovinos**. Capturado em 10 de agosto de 2003. Online. Disponível na Internet: <http://www.fmvz.unesp.br/ovinos/repman3.htm>.

BICUDO, S. D. et al. Diagnóstico de gestação através da palpação abdominal e reto-abdominal. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 31-34.

BOSTEDT, H.; DEDIE, K. **Schaf- und Ziegenkrankheiten**. Stuttgart: Verlag E. Ulmer, 1996. p.463-480, 1996.

BUCKRELL, B.C. Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. **Therigenology**, v.29, p.71-84, 1988.

BUCKRELL, B.C.; BONNETT, B.N.; JOHNSON, W.H. The use of real-time ultrasound rectally for early pregnancy diagnosis in sheep. **Therigenology**, v.25, p.665-73, 1986.

BÜRSTEL, D. **Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie**. Hannover, 2002. 142p. Tese (Doctor Medicinae Veterinariae) - Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover.

BÜRSTEL, D.; MEINECKE-TILLMANN, S.; MEINECKE, B. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. In: ANNUAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR DOMESTIC ANIMALS REPRODUCTION, 5th Vienna.

2001. Vienna. **Proceedings...** Vienna: **ESDAR Newsletter**, 2001a. v.6, p.53-54.

BÜRSTEL, D., MEINECKE-TILLMANN, S; MEINECKE, B. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. 5th Annual Conference of the Europ. Soc. for Domestic Anim. Reprod., Vienna, Sept. 13 - 15, 2001b, 53 - 54 (abstr.) (**ESDAR Newsletter 6**).

CASTRO, R.S. et al. Importância na saúde e na produtividade de caprinos e ovinos e a necessidade de controle no Nordeste brasileiro. **Ciência Veterinária nos Trópicos** v.4/3, p.315-320, 2001.

CAVALCANTI NETO, C. C. et al. Diagnóstico de gestação através do Scan A. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 69-72.

CHALHOUB, M. et al., Características do ultra-som Scan B. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 85-96.

CHALHOUB, M.; RIBEIRO FILHO, A. L. Diagnóstico de gestação em pequenos ruminantes por ultra-sonografia de tempo real. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, supl. 5, p.27-30, 2002.

CHAVEZ MORENO, J.; STEINMANN C.; BICKARDT, K. Fetale Herzfrequenzmessung und sonographische Fetometrie zur Bestimmung des Trächtigkeitsstadiums beim Schaf.

Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 103, 478 – 480, 1996.

CHEUICHE, A.J.V. A imagem ecográfica: formação e qualidade. **A Hora Veterinária**, v.19, n.114, p.51-56, 2000.

CHRISTOPHER, R.B.; MERRIT, M.D. Física do ultra-som. In: RUMACK, C.M.; STEPHANIER, R.W.; CHARBONEAU, W.J. **Tratado de ultra-sonografia diagnóstica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p.3-29.

COUGHBROUGH, C.A.; CASTELL, M.C. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. **Theriogenology**, v.50, n.2, p.263-267, 1998.

CRUZ, J.C. **Atividade folicular ovariana durante o anestro e ciclo estral induzido em cabra Anglo-Nubiana e saanen exploradas no Sudoeste da Bahia.** Fortaleza, 2003. 113p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará.

CURRAN, S. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. **Theriogenology**, v.37, p.17-21, 1992.

CURRAN, S.; KASTELIC, J.P.; GINTHER, O.J. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. **Animal Reproduction Science.**, v.19, p.217-227, 1989.

DAVEY, C.G. An evaluation of pregnancy testing in sheep using a real-time ultrasound scanner. **Australian Veterinary Journal**, v. 63, n. 10, p. 347-8, 1986.

DORN, C.G. et al. Follicular detection in goats by ultrasonography. **Theriogenology** 31, 185, 1989.

FERNANDES, C.A.C. et al. Fertilidade de novilhas após aborto induzido com cloprostenol. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v.54,n.3,p.279-282, 2002.

FRANZ, S.; HOFMANN-PARISOT, M.; GUMPENBERGER, M. Sonography of the teat of cattle, sheep and goats in comparison with other methods of diagnostic imaging: a review. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**, v.114, n.5-6, p.202-209, 2001.

FREITAS, V.J.F. et al. Diagnóstico de gestação através do efeito doppler. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha.** São Paulo: Varela, 2004. p. 65-68.

GARCIA, A. et al., Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in the ewe. **Theriogenology**, v.39, p.847-61, 1993.

GEARHART, M.A. et al., Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. **Theriogenology**, v.30, p.323-37, 1988.

GREGORY, R.M.; CARDOSO, L.; MATTOS, R.C. Sexagem dos fetos bovinos através da ultra-sonografia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11. 1995. Belo Horizonte. **Anais ...** Belo Horizonte: CBRA, 1995. p.412.

HAIBEL, G.K. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. The Veterinary Clinics of North-America. Food Animal Practice, v. 6, n. 3, p.597-613, 1990.

HESSELINK, J.W.; TAVERNE, M.A. Ultrasonography of the uterus of the goat. **The Veterinary Quarterly.**, v.16, n.1, p.41-45, 1994.

IBGE, 2002. Anuário Estatístico do Brasil, Rio de Janeiro, 58, 3-54.

ISHWAR, A.K. Pregancy diagnosis in sheep and goats: a review. **Small Ruminant Research**, v.17, n.4, p.37-44, 1995.

JANETT, F. et al. Hydrosalpinx in a goat. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde.**, v.143, n.2, p.105-108, 2001.

KÄHN, W. Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik. **Schlutersche Verlagsanstalt**, Hannover, 187-210, 1991.

KÄHN, W. **Veterinary reproductive ultrasonography**. London: Mosbywlf, 1994. 256p.

KÄHN, W. et al. Zur Sonographie der Gravidität bei Schafen. II. Genauigkeit der transrektalen und der transkutanen Trächtigkeitsdiagnose. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v.100, p.29-31, 1993.

KAHN, W. et al. Sonography during the pregnancy of sheep. I. Fetometry for the determination of the stage of gestation and prediction of the time of parturition. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 99, n.11, p.449-452, 1992.

KANDIL, O.M. et al. Determination of early pregnancy in ewes utilizing transabdominal ultrasonography. **Vet. Med. J. Giza**, 45, 129 – 135, 1997.

KAULFUSS, K.H.; Süß, R.; SCHENK, P. Die ultrasonographische Trächtigkeitsdiagnostik (B-Mode) beim Schaf. Teil 4: Ergebnisse einer Feldstudie. Tierärztliche Praxis., v.27, p.74-82, 1999.

KAULFUSS, K.H. et al. Die Optimierung von Embryotransferprogrammen beim Schaf durch die transrektale ultrasonographische Ovardiagnostik (B-Mode) bei superovulierten Donoren. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, v.102, p.208-212, 1995.

KAULFUSS, K.H., S. BRABANT, K. BLUME u. J. MAY Möglichkeiten und Grenzen der ultrasonographischen Ovardiagnostik beim Schaf. **Bildgebung/Imaging**, Suppl. 2 v.61, p.98, 1994.

KAULFUSS, K.H. et al. Die ultrasonographische Trächtigkeitsdiagnostik (B Mode) beim Schaf. Teil 1: Verlaufsuntersuchungen im ersten Trächtigkeitsmonat. Tierärztliche Praxis, v.24, p.443-52, 1996a.

KAULFUSS, K.H. et al. Die ultrasonographische Trächtigkeitsdiagnostik (B-Mode) beim Schaf. Teil 2: Vergleichende Untersuchungen zur transkutanen und transrektalen Trächtigkeitsdiagnostik. Tierärztliche Praxis, v.24, p.559-566, 1996b.

KÜHHOLZER, B., F. Follikelkontrolle superovulierter Schafe mittels Ultraschall. Jahrestagung der AET-d, 1. - 2. Juni 1995, Kleve, 1995.

KÜHHOLZER, B., F. et al. Ultrasonographic examination of ovarian structure dynamics in superovulated ewes. **Reproduction in Domestic Animals**, v.33, p.343-346, 1998.

LÊGA, E.; TONIOLO, G. Hidrometra na espécie caprina. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.23, n.3, p.446-447, 1999.

LEITE, J. E. B. et al., Diagnóstico de gestação através de radiologia In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha.** São Paulo: Varela, 2004. p.59-64.

LIMA, P. F. Et al., Biópsia e esfregaço vaginal como instrumento para viabilizar o diagnóstico precoce de gestação. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha.** São Paulo: Varela, 2004. p. 35-40.

MARTIN MARTIN e GARCIA ALFONSO, 1985. Bases Anatomicas : embriologia del aparato genital. In :_____. **Fisiopatologia de la reproduccion con sus bases sinopticas.** Zaragoza: Acribia, 1985. Cap. 1, p. 117-136.

MARTINEZ, M.F.; BOSCH, P.; BOSCH, R. A. Determination of early pregnancy and embryonic growth in goats by transrectal ultrasound scanning. **Theriogenology**, v.49, n.8, p.1555-1565, 1998.

McBRIDE-JOHNSON, B., L.C. NUTI u. D. WILTZ Ultrasonographic examination of the caprine ovary. **Veterinary Medicine** 89, 477 – 480, 1994.

MELO FILHO, A.M. **Avaliação da dinâmica folicular da cabra (Capra Hircus) através da ultra-sonografia**, 2002. 56 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia.

MERKT, H., J.C. DE ANDRADE MOURA Geschlechtsbestimmung von Pferdefeten zwischen dem 50. und 93. Tag der Trächtigkeit mittels Sonographie. **Tierärztliche Praxis**, v.28 p.166-171, 2000.

MERKT, H., J.C. MOURA, J.C.A.; JÖCHLE, W. Gender determination in equine fetuses between days 50 and 90 of pregnancy. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.19, p.90-94, 1999.

MICHEL, G. Die Entwicklung der Organe, Organogenese: Die Entwicklung des Geschlechtsapparates. In: _____. **Kompendium der Embryologie der Haustiere**. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1986. p.223-242.

MICHEL, G.; SCHWARZE, E. **Compendio de anatomia veterinária: embriologia**. Zaragoza: Acribia, 1970. 350p.

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N. Sistema urogenital. In: _____. **Embriologia clínica**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 290-331.

MORAES et. al. Incidência de hidrometra e mucometra em cabras. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.463, 2005.

MÜLLER, E.; WITTKOWSKY, G. Visualization of male and female characteristics of bovine fetuses by real-time ultrasonics. **Theriogenology**, v.25, p.571-574, 1986.

NAN, D.; VAN OORD, H.A.; TAVERNE, M.A.M. Determination of foetal gender in sheep by transabdominal ultrasonographic scanning. In: ANNUAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR DOMESTIC ANIMALS REPRODUCTION, 5th. 2001. Vienna. **Proceedings...** Vienna: **ESDAR Newsletter**, 2001. v.6, p.70.

NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. Embriologia do sistema genital e diferenciação sexual. In: _____. **Patologia da Reprodução dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p.3-5.

NEVES, J.P. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia. **Ciência Rural**, v.21, n.3, p.457-465, 1991.

NEVES, J. P. et al., Diagnóstico de gestação por laparoscopia. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 41-46.

NODEN, D.M.; DE LAHUNTA, A. **The embryology of domestic animals. Developmental mechanisms and malformations.** Baltimore: Williams and Wilkins, p.330-342, 1990.

OLIVEIRA, M.A.L. et al. Aplicabilidade do Scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha.** São Paulo: Varela, 2004. p. 85-96.

OLSSON K. et al. A serial study of heart function during pregnancy, lactation and the dry period in dairy goats using echocardiography. **Experimental Physiology**, v.86, n.1, p.93-99, 2001.

RAVINDRA, J.P. et al. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during oestrous cycle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.101, p.501-509, 1994.

REICHENBACH, H-D. et al. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha.** São Paulo: Varela, 2004. p.117-136.

RIESENBERG, S. **Ultrasonographische Dokumentation der Wachstumsdynamik ovarieller Funktionskörper unter Einbeziehung der Östradiol-17 β - und Progesteronplasma-konzentrationen während vier verschiedener Superovulationsmethoden bei kleinen Wiederkäuern.** 1997. 105 f. Tese (Doctor Medicinae Veterinariae) – Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztlichen Hochschule Hannover.

RIESENBERG S.; MEINECKE-TILLMANN, S.; MEINECKE B. Ultrasonic survey of follicular development following superovulation with a single application of pFSH, eCG or hMG in goats. **Small Ruminant Research.**, v.40, n.1, p.83-93, 2001.

RÜSSE, I. Harn- und Geschlechtsorgane. In: RÜSSE, I.; SINOWATZ, F. (Eds.). **Lehrbuch der Embryologie der Haustiere.** Berlin: Verlag Paul Parey, 1991. p.313-337.

RÜSSE, I.; GRUNERT, E. **Die normale Gravidität.** In: RICHTER, J. et al. **Tiergeburtshilfe.** Berlin: Verlag Paul Parey, 1993. p.29-64

SAGE, A. M. et al., Evaluation of diagnostic ultrasound as a mass screening technique for the detection of hydatid cysts in the liver and lung of sheep and goats. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 2, p. 349- 353, 1988.

SANTOS et al. Early identification of the fetal sex in small ruminants by ultrasonography. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.131-134, 2005.

SANTOS, M. H. B. et al. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha.** São Paulo: Varela, 2004. p.97-116.

SCHEERBOOM, J.E.M.; TAVERNE, M.A.M. A study of the pregnant uterus of the ewe and goat using real-time ultrasound scanning and electromyography, **Veterinary Research Communications**, v.9, p.45-56, 1985.

SCHNORR, B. Entwicklung der Organe: Entwicklung der Geschlechtsorgane. In: _____. **Embryologie der Haustiere: Ein Kurzlehrbuch**. Stuttgart: Verlag Enke, 1989. p.165-180.

SCHRICK, F.N.; INSKEEP, E.K. Determination of early pregnancy in ewes utilizing transretal ultrasonography. **Theriogenology**, v.40, p.295-306, 1993.

SCHRICK, F.N. et al. Ovarian structures during estrous cycle and early pregnancy in ewes. **Biology of Reproduction**. v.49, p.1133-1140, 1993.

SOUZA, R. V. et al. Diagnóstico presuntivo da gestação. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 27-30.

STROUD, B.K. Using ultrasonography to determine bovine fetal sex. **Veterinary Medicine**, v.91, p.663-672, 1996.

TAINTURIER, D. et al. Diagnostic de la gestation chez la brebis par échotomographie. **Rev. Med. Vet.**, v.134, p.523-526, 1983a.

TAINTURIER, D. et al. Diagnostic de la gestation chez la chevre par échotomographie. **Rev. Med. Vet.**, v.134, p.597-599, 1983a.

TENÓRIO FILHO, F. **Dinâmica folicular ovariana da cabra avaliada com ultra-som por vias transretal e transvaginal**. Recife, 2003. 62p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

TRALDI, A. S. et al. Diagnóstico precoce de gestação através de dosagens protéica e hormonal. In: SANTOS, M.H.B; OLIVEIRA, M.A.L; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 47-58.

VIANA, J.H.M.; VIANA, A.K.M.; FERREIRA, A.M. Sexagem fetal por meio de ultrasonografia em receptoras inovuladas com embriões da raça holandesa. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 2000. Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2000. v.37, p.186.

WHITE, I.R.; RUSSEL, A.J.F.; FOWLER, D.J. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the determination of fetal numbers in sheep. Veterinay Record, v.115, p.140-3, 1984.

WILKENS, H. Embryologie und Anatomie des weiblichen Genitale. In: GRUNERT, E., BERCHTOLD, M. **Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind**. Berlin: Verlag Paul Parey, 1982. p.25-48.

IDENTIFICAÇÃO DO SEXO DE FETOS EM ÚTEROS DE CABRAS E OVELHAS UTILIZANDO A ULTRA-SONOGRAFIA

(Identification of fetal sex in uterus of goats and ewes by ultrasonography)

Maico Henrique Barbosa dos SANTOS¹, Érica Paes Barreto Xavier de MORAES¹,
Sebastião Inocêncio GUIDO¹, Filipe Queiros Gondim BEZERRA², Paulo Fernandes de LIMA⁴,
Vicente José de Figueiredo FREITAS³, Marcos Antonio Lemos de OLIVEIRA^{4(*)}

RESUMO

Neste trabalho, o objetivo foi de identificar o sexo fetal em úteros, entre 5 e 10 semanas de gestação, de caprinos e ovinos obtidos em matadouro. O sexo foi definido levando-se em consideração a localização do tubérculo genital (TG) e a visualização da genitália externa. Os úteros das cabras (n = 108) e ovelhas (n = 64) foram examinados após imersão em recipiente contendo água, com transdutor linear de 6,0 e 8,0 MHz. Nas gestações simples, o acerto na identificação do sexo fetal foi 85,7% (48/56) nos caprinos e de 94,7% (36/38) nos ovinos e nas gestações duplas foi de 76,9% (40/52) nos caprinos e de 84,6% (22/26) nos ovinos. Não ocorreram erros na determinação do número de fetos e de todos os fetos examinados, a acurácia da sexagem foi de 81,5% (88/108) nos caprinos e de 90,6% (58/64) nos ovinos, não sendo observada diferença ($P > 0,05$) entre espécies, pelo cálculo do erro padrão da diferença entre as proporções. Os resultados permitem concluir que a ultra-sonografia é eficiente para identificar precocemente o sexo fetal nos pequenos ruminantes e que a experiência do operador é fundamental para minimizar e até mesmo eliminar a emissão de diagnósticos equivocados.

Palavras Chave: tubérculo genital, prepúcio, pênis, saco escrotal, tetas e vulva

ABSTRACT

In this work the objective was to identify the fetal sex in pregnant uterus, between 5 and 10 weeks, of goats and ewes obtained in slaughterhouse. The sex was defined taking into

consideration the localization of the GT and visualization of external genitalia. The uterus of goats (n = 108) and ewes (n = 64) were examined after immersion in a water containing recipient, with 6.0 and 8.0 MHz linear transducer. In single pregnancies, the correct fetal determination was 85.7% (48/56) in goats and 94.7% (36/38) in ewes and in twin pregnancies was 76.9% (40/52) in goats and 84.6% (22/26) in ewes. There is no mistake in fetal quantification and the accuracy from the all fetuses scanned was 81.5% (88/108) in goats and 90.6% (58/64) in ewes, being not observed difference ($P > 0.05$) between species, by analyse of standard errors of the difference among proportions. The results allow to conclude that the ultrasonography is efficient to identify previously the fetal sex in small ruminants and that the experience of operator is important to reduce and even eliminate the failures in diagnose.

Key words: genital tubercle, prepuce, penis, scrotal bag, nipples, genital swelling

INTRODUÇÃO

A utilização de imagens ultra-sonográficas é um procedimento rotineiro na Medicina Veterinária e sua aplicabilidade na reprodução de pequenos ruminantes pode ser uma ferramenta importante no aperfeiçoamento e difusão de algumas biotécnicas, sendo o diagnóstico de gestação e o controle da dinâmica folicular, alguns dos assuntos mais pesquisados (OLIVEIRA et al., 2004).

A determinação precoce do sexo fetal por meio da ultra-sonografia vem sendo realizada com sucesso há alguns anos em bovinos e eqüinos (CURRAN e GINTHER, 1991; CURRAN, 1992), mas nos pequenos ruminantes, ainda é de uso limitado, apesar do potencial que apresenta em contribuir para o avanço de diversas áreas da pesquisa fundamental (REICHENBACH et al., 2004).

Dentre as aplicações práticas da sexagem fetal, pode-se destacar sua importância para a produção animal, por permitir um melhor planejamento tanto para adquirir quanto para

comercializar animais do próprio rebanho (HAIBEL, 1990). Este melhor planejamento implica numa coordenação de ações mais efetivas, que proporcionem maior concentração de fêmeas nos rebanhos leiteiros e de machos nos de carne, racionalizando a produção e a lucratividade (REICHENBACH et al., 2004).

Apesar do exposto, a difusão da sexagem fetal na cabra e na ovelha, sobretudo em condições de campo, depende de uma maior precisão no diagnóstico ultra-sonográfico, uma vez que fatores como gestações múltiplas, disparidade na idade dos conceptos e a realização de um único exame, podem induzir a emissão de falsos diagnósticos (BÜRSTEL, 2002) que podem comprometer a capacidade dessa biotécnica em agregar valores à atividade pecuária (SANTOS et al., 2005).

Considerando que a sexagem fetal ainda é restrita em todos os continentes, principalmente no Brasil e na Região Nordeste que detém a maior concentração dessas espécies no País, neste trabalho objetivou-se identificar, precocemente, o sexo fetal nas espécies caprina e ovina através da ultra-sonografia em tempo real.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido utilizando-se úteros gestantes, com fetos entre 5 e 10 semanas. Os úteros da espécie caprina (n = 108) foram provenientes do Matadouro Público do Município de Sertânia – PE e os da espécie ovina (n = 64) foram obtidos no Matadouro Público do Município de Caruaru - PE.

Após imersão do útero em recipiente contendo água para facilitar a execução e simular uma condição natural de exame, a varredura foi realizada com transdutor linear de dupla frequência (6,0 e 8,0 MHz) acoplado ao monitor ultra-sonográfico da marca Pie Medical, modelo 240 Parus. Foi também utilizada uma impressora da marca Sony, modelo VP/1200.

Os exames ultra-sonográficos foram conduzidos pelo mesmo operador, dedicando-se especial atenção à região umbilical e aquela localizada entre os membros posteriores do feto. Foram considerados do sexo masculino, os fetos que apresentaram o tubérculo genital (TG) posicionado caudalmente ao cordão umbilical e do sexo feminino, aqueles em que o TG encontrava-se situado próximo à cauda. O TG foi visualizado, no plano horizontal ao eixo longitudinal do feto, como sendo uma estrutura bilobular, altamente hiperecótica. Foram também consideradas estruturas da genitália externa, como pênis, prepúcio ou bolsa escrotal nos fetos machos, além de tetas, vulva ou clitóris nas fêmeas (Figura 1).

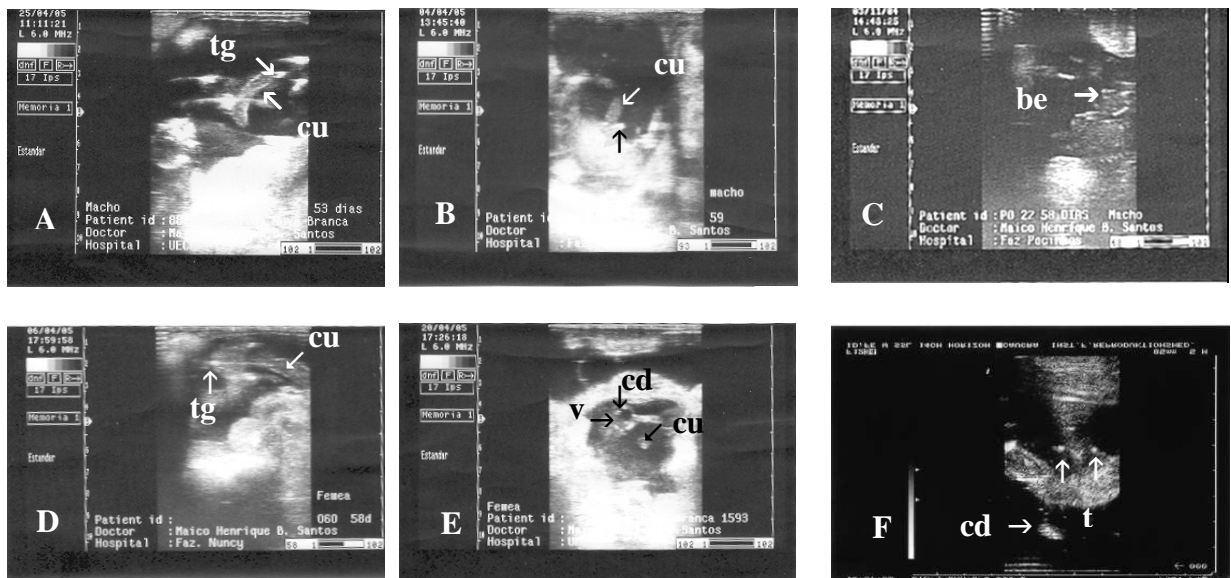


Figura 1 – Fetos do sexo masculino (A, B, C) evidenciando imagem hiperecótica do TG (tg) situado caudalmente ao cordão umbilical (cu), do prepúcio (p) e da bolsa escrotal (be). Fetos do sexo feminino (D, E, F) mostrando imagem hiperecótica do TG (tg) situado próximo à cauda (cd), da vulva (v) e das tetas (t).

Após os exames ultra-sonográficos, os úteros foram seccionados e os fetos retirados para constatação do diagnóstico e posterior determinação do comprimento céfalo-coccígeo (CCC), para estimar a idade fetal, como proposto por Sivachelvan et al. (1996).

A acurácia da sexagem fetal foi calculada utilizando-se o coeficiente do número de fetos sexados corretamente pelo número total de fetos quantificados. A comparação entre gestação simples e dupla, entre caprinos e ovinos, bem como entre diagnósticos corretos e

incorretos foi realizada através do cálculo do erro padrão da diferença entre as proporções, conforme Reis (2003).

RESULTADOS

Nos caprinos, o CCC dos fetos mensurados variou de 4 a 18 cm e nos ovinos de 3,5 a 17 cm.

A acurácia da sexagem fetal não foi influenciada ($P > 0,05$) pelo tipo de gestação, simples ou dupla e tampouco ($P > 0,05$) pela espécie, caprina ou ovina (Tabela 1), com base no cálculo do erro padrão da diferença entre as proporções.

Independentemente do tipo de gestação ou da espécie, o cálculo do erro padrão da diferença entre as proporções evidenciou que o número de diagnósticos corretos foi superior ($P < 0,05$) ao número de diagnósticos incorretos (Tabela 1).

Tabela 1 – Diagnósticos corretos e incorretos do sexo fetal em úteros, contendo gestações simples e duplas, de caprinos e ovinos provenientes de matadouro.

Espécie	Gestação simples		Gestação Dupla	
	Correto n/n' (%)	Incorreto n/n' (%)	Correto n/n' (%)	Incorreto n/n' (%)
Caprina	48/56 (85,7)	8/56 (14,3)	40/52 (76,9)	12/52 (23,1)
Ovina	36/38 (94,7)	2/38 (5,3)	22/26 (84,6)	4/26 (15,4)
T o t a l	84/94 (89,4)	10/94 (10,6)	62/78 (79,5)	16/78 (20,5)

n = número de animais com diagnóstico correto ou incorreto; n' = número total de animais examinados

Neste experimento foi também constatado que os erros no diagnóstico foram diminuindo, de acordo com número de exames efetuados, conforme está representado na Figura 2.

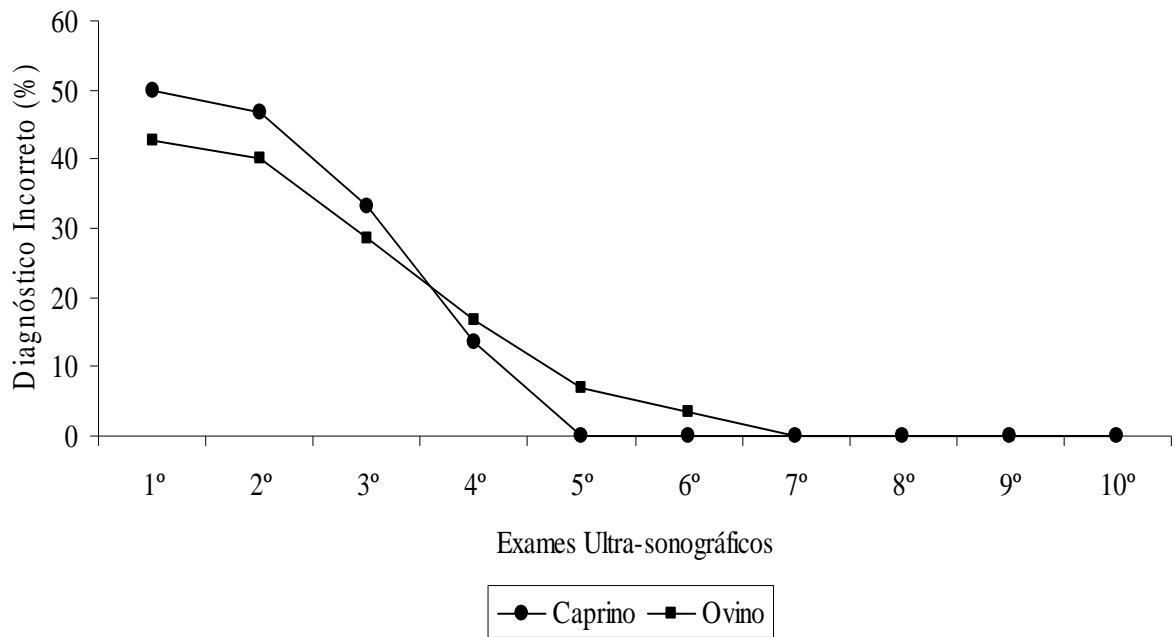


Figura 2 – Relação entre a porcentagem de diagnósticos incorretos e o número de exames realizados para maximizar a acurácia do exame ultra-sonográfico.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciaram que a rotina de exames ultra-sonográficos proporciona maior experiência ao operador e, como consequência, as falhas de diagnóstico são consideravelmente minimizadas e até mesmo eliminadas após a realização de uma série de exames. Esses achados são contrários aos de Bürstel (2002), que relatou não ter sido possível diferenciar macho de fêmea nos úteros submersos em água antes do 56º dia de gestação, enfatizando, ainda, que somente a partir do 60º dia é que os diagnósticos puderam ser emitidos sem grandes dificuldades. É provável que a diferença de qualidade dos equipamentos utilizados nas diferentes pesquisas tenha determinado esse desencontro de informações. Para respaldar essas afirmações, vale a pena ressaltar que em consequência da maior disponibilidade de úteros caprinos, os falsos diagnósticos foram eliminados já a partir

do 5º exame fato que na espécie ovina somente ocorreu 2 semanas mais tarde, no 7º exame, como já explicitado na Figura 2.

Os equívocos na sexagem, independentemente de ser gestação simples ou dupla, foram significativamente menores do que os acertos e o fato de terem sido diagnosticadas fêmeas ao invés de machos pode ser creditado a pouca experiência do operador, haja vista que os exames ultra-sonográficos para diagnosticar gestação são de menor complexidade. É oportuno comentar que a distância de posicionamento do TG entre machos e fêmeas é reduzida em fetos com até 10 semanas de idade e quando não existem outras estruturas anatômicas que caracterizem o feto macho e auxiliem na diferenciação do sexo, o operador pode ser induzido a emitir falso diagnóstico (SANTOS et al., 2005).

A sexagem nos machos pode ser considerada mais acurada em função do maior número de estruturas anatômicas utilizadas para essa finalidade. Essas considerações respaldam o que outros autores como Davey (1986), Kähn et al. (1993) e Kauflfuss et al. (1996) haviam anteriormente descrito sobre a importância da visualização de outras estruturas anatômicas presentes no macho facilitar o diagnóstico do sexo fetal. Ainda sobre o mesmo assunto é interessante reportar que apesar da cauda e do cordão umbilical, em alguns casos, posicionarem-se entre os membros posteriores e impedirem a visualização da vulva e das tetas na fêmea, nos machos existirão o TG e o prepúcio para serem adequadamente visualizados. Esse comentário é oportuno por ser, segundo Bürstel (2002), um fato comum na rotina de sexagem fetal, especialmente nos ovinos que possuem uma cauda suficientemente comprida para provocar estes transtornos.

Apesar de não se verificar associação entre a sexagem de fetos oriundos de gestações simples ou duplas, as maiores dificuldades na sexagem ocorriam em gestações com mais de um feto, achados que reforçam as considerações de White et al. (1984), Gearhart et al. (1988) e Haibel (1990), bem como o relato de Bürstel et al. (2001) ao propor, nos casos de gestações

múltiplas, a realização de exames em dois períodos consecutivos, sendo o primeiro realizado entre o 50° e o 56° dia e o segundo entre o 66° e o 70° dia. Este último autor ainda adverte que exames para sexagem fetal somente devem ser implementados nos casos de gestação múltipla com até três fetos. Mesmo assim, tanto na opinião de Bürstel et al. (2001) quanto nas de White et al. (1984), Gearhart et al. (1988) e Haibel (1990), os diagnósticos resultantes desses exames estão vulneráveis a freqüentes equívocos.

Apesar de terem sido examinados úteros imersos em recipiente contendo água, portanto, bastante diferente do exame realizado *in vivo*, seja pelas vias transretal, transabdominal ou transvaginal, as porcentagens de acerto nas gestações simples foram consideradas elevadas e superaram a expectativa inicial dos autores em função do pequeno número de fetos examinados.

Mesmo trabalhando com material inerte, adverte-se que não é tão simples a identificação do sexo porque, nem sempre, o conceito está adequadamente posicionado para permitir a visualização das estruturas anatômicas. É possível informar que os índices de acerto nas gestações simples foram superiores aos de Bürstel (2002), a qual relatou que os fetos com CCC de 9 cm, com aproximadamente 8 semanas de idade, é que o TG pode ser observado, com muita dificuldade, no útero em imersão. O mesmo autor ainda sugere que somente nos fetos com CCC de 12 cm, com idade aproximada de 9 semanas, é que a sexagem fetal é efetuada sem maior dificuldade, com base na localização do TG.

Uma limitação encontrada neste experimento foi à dificuldade na obtenção dos úteros contendo fetos em idade adequada para ser efetuada a sexagem, fato que explica o reduzido número de úteros examinados ($n = 172$) em relação ao de animais abatidos ($n = 1223$). Entretanto, é interessante ressaltar que a prática de exames prévios em úteros procedentes de matadouro é uma possibilidade de pesquisa importante para os profissionais da área de reprodução que objetivam desenvolver atividade com ultra-sonografia.

CONCLUSÃO

A ultra-sonografia é eficiente para identificar precocemente o sexo fetal nos pequenos ruminantes, sendo a utilização de peças provenientes de matadouro de fundamental importância para o aprimoramento da técnica.

A acurácia da sexagem não é influenciada pela espécie e pelo tipo de gestação simples ou dupla.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BÜRSTEL, D. **Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie.** Hannover, 2002. 142p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover.

BÜRSTEL, D.; MEINECKE-TILLMANN, S.; MEINECKE, B. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. ANNUAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR DOMESTIC ANIMAL REPRODUCTION. 5, 2001, Vienna. **Proceeding ...** Vienna: ESDAR Newsletter, v.6, p.53 - 54.

CURRAN, S. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. **Theriogenology**, Los Altos, v.37, p.17-21, 1992.

CURRAN, S.; GINTHER O.J. Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm conditions. **Theriogenology**, Los Altos, v.36, p.809-814, 1991.

DAVEY, C.G. An evaluation of pregnancy testing in sheep using a real-time ultrasound scanner. **Australian Veterinary Journal**, Lamperdown, v. 63, p.347-348, 1986.

GEARHART, M.A.; WINGFIELD, W.E.; KNIGHT, J.A. et al. Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. **Theriogenology**, Los Altos, v.30, 323-337, 1988.

HAIBEL, G.K. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v.3, p.597-613, 1990.

KÄHN, W.; AACHTZEHN, J.; KÄHN, B. et al. Zur Sonographie der Gravidität bei Schafen. II Genauigkeit der transrektalen und der transkutanen Trächtigkeitdiagnose. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, Hannover, v.100, p.29-31, 1993.

KAULFUSS, K.H.; ZIPPER, N.; MAY, J. et al. Die ultrasonographische Trächtigkeitsdiagnostik (B- Mode) beim Schaf. Teil 2: Vergleichende Untersuchungen zur transkutanen und transrektalen Trächtigkeitsdiagnostik. **Tierärztliche Praxies**, Berlin, v.24, p.559-566, 1996.

OLIVEIRA, M.A.L.; REICHENBACH, H-D.; SANTOS, M.H.B. et al. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p.85-96.

REICHENBACH, H-D.; SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L. et al. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In: SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p.117-136.

REIS, J.C. **Estatística aplicada à pesquisa em ciência veterinária**. Olinda: J.C.R. 2003. 651p.

SANTOS, M.H.B.; MORAES, E.P.B.X; MOURA, R.T.D. et al. Identificação precoce do sexo em pequenos ruminantes através da ultra-sonografia. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.33, p.131-134, 2005.

SIVACHELVAN, M. N.;GHALIALI, M.; CHIBUZO, G. A. Foetal age estimation in sheep and goats. **Small Ruminant Research**, Shannon, v.19, p.69-76, 1996.

WHITE, I.R.; RUSSEL, A.J.F.; FOWLER, D.G. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and determination of fetal numbers in sheep. **Veterinary Record**, London, v.115, p.140-143, 1984.

YAMAGA, Y.; TOO, K. Diagnostic ultrasound imaging in domestic animals: fundamental studies on abdominal organs and fetuses. **Japanese Journal of Veterinary**, v.46, p.203-212, 1984.

Sexagem fetal em ovelhas Santa Inês por ultra-sonografia

Fetal sexing in Santa Inês ewes by ultrasonography

Maico Henrique Barbosa dos SANTOS¹, Érica Paes Barreto Xavier de MORAES¹,
Sebastião Inocêncio GUIDO¹, Filipe Queiros Gondim BEZERRA¹, Arthur Nascimento MELO²,
Paulo Fernandes de LIMA³, Marcos Antonio Lemos de OLIVEIRA³

RESUMO

O presente estudo teve a finalidade de identificar o sexo e de determinar o dia da migração do tubérculo genital (TG) de fetos ovinos através da ultra-sonografia em tempo real. O sexo foi identificado no Experimento I (EI) levando-se em consideração a localização do TG e no Experimento II (EII), a presença do pênis, prepúcio e bolsa escrotal no feto macho e das tetas, vulva e clitóris no feto fêmea. No EI, as fêmeas (n = 17) foram monitoradas em intervalos de 12 horas, do 35º ao 46º dia de gestação, por via transretal com transdutor linear (6,0 e 8,0 MHz). No EII, as fêmeas (n = 30) com gestação de 55 a 75 dias foram examinadas apenas uma vez, utilizando-se o mesmo transdutor e via de exame do EI. Das 17 fêmeas do EI, 11 (64,6%) tiveram seus fetos corretamente sexados, independente da gestação ter sido simples (7/11), dupla (3/11) ou tríplice (1/11). Nas 6 (35,4%) gestações restantes, 3 (17,7%) foram duplas, sendo impossível sexar um feto de cada gestação. Nas outras 3 (17,7%) gestações, os fetos foram corretamente sexados, apesar dos nascimentos não coincidirem com a quantificação. Num feto macho de uma gestação simples, a migração ocorreu no 37º dia e até o 46º, todos os fetos das outras gestações estavam corretamente sexados. Das 30 fêmeas do EII, 16 (53,4%) apresentaram gestações simples e a acurácia da sexagem foi de 100%. Nas 14 (46,6%) restantes, as gestações foram duplas, sendo impossível, em quatro casos, determinar o sexo de, pelo menos, um dos gêmeos. De todos os fetos nascidos, a acurácia geral da sexagem foi de 88,0% (EI) e 90,9% (EII), não sendo observada diferença ($P > 0,05$) entre ambos os experimentos. Os resultados permitem concluir que a ultra-sonografia em tempo

real é um método eficiente para diagnosticar o sexo fetal pela visualização do TG, assim como pela identificação do pênis, prepúcio e bolsa escrotal no feto macho e das tetas, vulva e clitóris no feto fêmea, desde que os exames sejam realizados a partir do 50º dia de gestação.

Palavras-chave: *tubérculo genital, saco escrotal, pênis, prepúcio, tetas, vulva.*

ABSTRACT

The present study aimed to identify the sex and to determine the day of genital tubercle (GT) migration of ovine fetuses using real time ultrasonography. The sex was identified in Experiment (EI) taking into consideration the localization of GT and in Experiment II (EII) the presence of penis, prepuce and scrotal bag in male fetus and nipples, genital swelling and clitoris in female fetus. In EI, the females (n = 17) were monitored with 12 hour intervals from the 35th to the 46th day of pregnancy, by transrectal via with linear transducer (6.0 and 8.0MHz). In EII, the females (n = 30) with pregnancy period from 55 to 75 days were examined once only, using the same transducer and via used in EI. Among 17 females in EI, 11 (64.6%) fetuses were correctly sexed independent of single (7/11), twin (3/11) or triple (1/11) pregnancy. In 6 (35.4%) pregnancies, 3 (17.7%) were twin, being impossible to sex one fetus of each pregnancy. In other 3 (17.7%) pregnancies the fetuses were correctly sexed, although the birth did not coincide with the quantification. In a male fetus of a single pregnancy, the migration of the GT began on day 37 of pregnancy and on the 46th day all the fetuses of the other pregnancies were correctly sexed. Among 30 females in EII, 16 (53.4%) pregnancies were single being sexed with accuracy of 100%. In other 14 (46.6%) remainder the pregnancies were twin, being impossible, in four cases, to be determined the sex of one of each twin. The incorrect diagnoses were fetuses sexed as females, however born as males. From the all born fetuses the total accuracy was 88.0% (EI) and 90.9% (EII), being not observed difference (P > 0.05) between both experiments. The results allow to conclude that

ultrasonography in real time is an efficient method to diagnose the fetal sex by visualization of GT, as well as by identification of penis, prepuce and scrotal bag in male fetus and nipples, genital swelling and clitoris in female fetus, since the scanning are performed from Day 50 of pregnancy.

Key words: *genital tubercle, scrotal bag, penis, prepuce, nipples, genital swelling.*

INTRODUÇÃO

A cadeia de eventos do processo produtivo tem na reprodução animal seu principal alicerce e qualquer alteração na esfera reprodutiva compromete o potencial produtivo do rebanho e interfere no custo/benefício da atividade pecuária (BICUDO 2002). Assim, para racionalizar a exploração da caprino-ovinocultura faz-se necessário a adoção de ferramentas capazes de viabilizar o monitoramento reprodutivo para aumentar a produtividade do rebanho (SANTOS et al., 2004).

Nos últimos anos foi gerada uma série de biotécnicas, como a inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE) e até a fecundação in vitro (FIV), na expectativa de tecnificar a produção das criações mais estruturadas. Apesar dessas ferramentas contribuírem para aumentar a fecundidade, a prolificidade e acelerar o melhoramento genético dos rebanhos é preciso considerar que a utilização destas biotécnicas requer alto investimento financeiro e necessita de um comércio atraente que assegure rotatividade e retorno do capital investido, pelo menos em médio prazo (BANDEIRA et al., 2004).

A identificação precoce do sexo fetal através da ultra-sonografia vem sendo implementada com sucesso e em larga escala, há alguns anos, em bovinos e eqüinos. Nos pequenos ruminantes, apesar de ser ainda de uso restrito (ANDRADE et al., 2004), pode contribuir para a evolução de diversas áreas da pesquisa fundamental, visando, por exemplo, o diagnóstico precoce do sexo de fetos gerados através da IA com sêmen sexado (JOHNSON,

2000; GARNER, 2001), por meio da TE com sexo pré-determinado (GUTIERREZ-ADAN et al., 1997) ou através da FIV utilizando a técnica da injeção intracitoplasmática de espermatozóide (CATT et al., 1996).

Dentre as vantagens da sexagem fetal, pode-se destacar sua influência na produção animal, particularmente em rebanhos leiteiros, por permitir um melhor planejamento para adquirir e comercializar animais do próprio rebanho (HAIBEL, 1990). O resultado pode elevar ou diminuir o valor do feto sexado e facilitar a coordenação de ações que visem racionalizar produção e lucratividade, enfatizando que aprimorar o planejamento implica numa maior concentração de fêmeas nos rebanhos leiteiros e de machos nos de carne (REICHENBACH et al., 2004).

Apesar do exposto, a difusão da técnica de sexagem na cabra e na ovelha, sobretudo em condições de campo, depende de uma maior precisão no diagnóstico, uma vez que gestações múltiplas, disparidade na idade dos conceptos e, principalmente, a realização de um único exame, podem contribuir para a emissão de diagnósticos equivocados (BÜRSTEL, 2002).

Considerando que a sexagem fetal nos pequenos ruminantes ainda é restrita em todos os continentes, especialmente no Brasil e na Região Nordeste que detém a maior concentração dessas espécies, este trabalho objetivou identificar precocemente o sexo e determinar o período de migração do tubérculo genital (TG) de fetos da espécie ovina através da ultrasonografia em tempo real.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho, constituído de dois experimentos (EI e EII), foram utilizadas 47 ovelhas da raça Santa Inês pertencentes à Fazenda Pocinhos D'água, localizada no Município de Brejo da Madre de Deus, Região Agreste do Estado de Pernambuco.

Foi utilizado um aparelho ultra-sonográfico, modelo 240 Parus (Pie Medical), equipado com um transdutor linear (6,0 e 8,0 MHz) adaptado a um suporte de PVC para facilitar a manipulação no reto do animal, como sugerido por OLIVEIRA et al. (2004), além de uma impressora (Seikosha VP/1200 – Sony). Os exames ultra-sonográficos foram realizados por um único operador.

No EI (n = 17), as fêmeas foram monitoradas em intervalos de 12 horas, do 35º ao 46º dia de gestação, para acompanhar a migração do TG. Foram considerados fetos machos aqueles que apresentavam o TG em posição imediatamente caudal ao cordão umbilical (Figura 1A) e fêmeas, os que evidenciavam o TG posicionado abaixo da cauda (Figura 1B).

No EII, as 30 fêmeas com idade gestacional entre o 55º e o 75º dia foram submetidas a um exame único com o transdutor linear por via transretal. O sexo foi identificado tomando-se por base, a presença do TG ou de uma ou mais estrutura da genitália externa, como bolsa escrotal, pênis e prepúcio no feto macho (Figura 1C) e tetas, vulva e clitóris (Figura 1D) no feto fêmea.

Os dados foram analisados através do teste de Qui-quadrado, considerando-se o nível de significância da ordem de 5%.

RESULTADOS

No EI, o acompanhamento diário permitiu registrar, num animal, o início da migração do TG em direção a região umbilical a partir do 37º dia de gestação, mas somente no 46º dia é que a identificação do sexo de todos os animais foi concluída (Figura 2). O valor médio do dia da migração foi de $41,4 \pm 2,1$ dias. Das 17 fêmeas, 11 (64,6%) tiveram seus fetos sexados corretamente, independente da gestação ter sido simples (7/11), dupla (3/11) ou tríplice (1/11). Nas 6 (35,4%) gestações restantes, 3 (17,7%) foram duplas e não foi possível sexar um

feto de cada gestante. Nas outras 3 (17,7%), os fetos foram corretamente sexados, apesar dos nascimentos não coincidirem com a quantificação.

Das 30 fêmeas do EII, 16 (53,4%) apresentaram gestações simples e nestas a acurácia da sexagem foi de 100%. Nas 14 (46,6%) restantes que evidenciaram gestação dupla, em quatro foi impossível determinar o sexo de um dos gêmeos (Tabela 1).

De todos os fetos nascidos, a acurácia total foi de 88,0% (EI) e 90,9% (EII), não sendo observada diferença ($P > 0,05$) entre ambos os experimentos.

DISCUSSÃO

É comum existir a necessidade da realização de exames ultra-sonográficos seriados, seja em intervalos de 24, 48 ou 72 horas ou mesmo até em intervalos mais longos, para diagnosticar o sexo do feto com precisão, como sugerem BÜRSTEL (2002) e REICHENBACH et al. (2004). Neste trabalho, contudo, foi demonstrado que exames repetidos em pequenos intervalos, não proporcionam resultados mais expressivos, apesar de permitir, no feto macho, a visualização precoce do TG em migração ou já devidamente posicionado na região umbilical. Além disso, é preciso considerar que exames realizados em curtos intervalos, sejam de 24 ou de 48 horas e especialmente como o adotado neste trabalho, certamente são inviáveis nas condições de campo. Os constantes deslocamentos e a distância que o operador deve percorrer com as freqüentes visitas técnicas oneram o custo/benefício dos exames ultra-sonográficos, inviabilizando uma atividade que, se bem administrada, é de grande importância para a produção animal em decorrência de maximizar as práticas de manejo e de planejamento comercial da propriedade, conforme reportaram HAIBEL (1990) e REICHENBACH et al. (2004).

Além do abordado e na dependência do período e do tipo de gestação, nem sempre é possível quantificar todos os fetos de forma precisa, como por exemplo, nas gestações

múltiplas e, muito menos, identificar o sexo de todos. Abordagem semelhante foi anteriormente descrita por REICHENBACH et al. (2004), ao explicitarem que além da necessidade de equipamentos mais sofisticados e de pessoal qualificado, um outro fator que limita a identificação do sexo fetal em condições de campo é a necessidade de exames seriados, principalmente nos casos de gestações múltiplas.

A observação do TG em migração aos 37 dias de gestação ocorreu apenas num feto macho, ressaltando que este mesmo feto apresentou ao nascimento, peso e tamanho diferenciado dos demais. É permissível especular que o componente genético, associado a outros fatores, tenha contribuído para tal precocidade. Como exemplo, pode ser mencionado o fato de ter sido produto de gestação simples e, devido a isso, teve condição privilegiada para desenvolver. Os achados deste trabalho contrariam as observações de BÜRSTEL (2002) ao relatar que somente após o 40º dia de gestação é possível visualizar o TG através da ultrasonografia. Admite-se que a controvérsia entre ambos os resultados deve ser decorrente do efeito da precocidade da raça ou como já ressaltado anteriormente, em consequência da qualidade do equipamento.

Mesmo não existindo diferença entre a sexagem de fetos provenientes de gestações simples ou duplas, as maiores dificuldades na sexagem ocorrem naquelas com mais de um feto, achados que reforçam as considerações de WHITE et al. (1984), GEARHART et al. (1988) e HAIBEL (1990), bem como o relato de BÜRSTEL et al. (2001) ao propor, nos casos de gestações múltiplas, a realização de exames em dois períodos consecutivos, sendo o primeiro realizado entre o 50º e o 56º dia e o segundo entre o 66º e o 70º dia. Advertiram ainda que exames para sexagem fetal somente devem ser implementados nos casos de gestação múltipla com até três fetos, em função dos diagnósticos resultantes desses exames serem vulneráveis a freqüentes equívocos, opinião compartilhada com WHITE et al. (1984), GEARHART et al. (1988) e HAIBEL (1990). Com relação às gestações duplas, nas quais a

quantificação não coincidiu com o nascimento, é importante salientar que nos três casos, um dos gêmeos sofreu um processo de mumificação, ocorrência que foi registrada ao serem examinados os envoltórios fetais imediatamente após o parto. Além disso, é interessante ressaltar que as imagens de todos os diagnósticos eram impressas, razão pela qual é possível afirmar não ter havido equívoco na quantificação dos conceptos.

As porcentagens de acerto equivalentes a 100% obtidas nas gestações simples foram maiores do que os índices reportados por COUGHBROUGH & CASTELL (1998) e BÜRSTEL (2002), salientando-se que os primeiros autores ainda relataram ter sido impossível determinar o sexo fetal em 7% dos animais examinados por via transretal. A apresentação do concepto no exato momento da avaliação e o número de exames efetuados num mesmo animal são fatores decisivos para visualização das estruturas anatômicas.

Os resultados acima apresentados permitem o comentário de que a via transretal é eficiente para a sexagem entre o 46º e o 75º dia de gestação, independentemente de ser simples ou dupla. Ainda é possível enfatizar que esse resultado contraria o de BÜRSTEL et al. (2002), que relatou não ser recomendado utilizar essa via de exame nas gestações múltiplas. A experiência do operador e a qualidade do equipamento ultra-sonográfico disponível, como já anteriormente ressaltadas, são fundamentais para o êxito do diagnóstico do sexo fetal em qualquer período de gestação. No caso específico deste trabalho, ao se utilizar um transdutor linear com dupla frequência, é permissível admitir que o equipamento deva ter contribuído para os resultados terem sido mais expressivos do que os de COUGHBROUGH & CASTELL (1998) e de BÜRSTEL (2002).

Determinar o dia exato em que ocorre a migração do TG ainda é o maior desafio da sexagem fetal nos pequenos ruminantes. Mesmo considerando que a sexagem fetal com base na localização do TG já seja possível no 37º dia de gestação e que até o 46º todos os fetos podem estar devidamente sexados na raça Santa Inês, sugere-se que o exame ultra-

sonográfico deva ser realizado somente a partir do 50º dia após a cobertura. Essa proposição tem a finalidade de evitar que fetos machos sejam indevidamente sexados como fêmeas, porque existe a possibilidade da migração do TG ocorrer de forma mais tardia. Apesar do exposto, ainda é preciso enfatizar que o TG de algum feto pode migrar, mesmo que remotamente, após o 50º dia, em consequência de possíveis variações entre indivíduos da mesma e de diferentes raças, assim como entre fetos originados de monta natural e de transferência de embriões congelados, ao menos em fetos da raça Morada Nova (SANTOS, 2005 – Informe verbal).

Finalmente, é permitido concluir que a ultra-sonografia em tempo real é um método eficiente tanto para diagnosticar o sexo fetal pela visualização do TG, quanto pela identificação das estruturas relativas à genitália externa, desde que os exames sejam realizados a partir do 50º dia de gestação.

SANTOS, M.H.B. Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da UFRPE. Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos - CEP 52171-900 Recife-PE/Brasil (maico.henrique@uol.com.br). Angra dos Reis, XIX Reunião Anual da SBTE, 25 a 28 de agosto de 2005, Work Shop – Aspectos práticos da IA e TE em Caprinos e Ovinos.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, J.C.O et al. Sexagem fetal em ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.185, 2004.

BANDEIRA, D.A. et al. Aspectos da caprino-ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivo e reprodutivo. In: SANTOS, M.H.B. et al. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap. 1. p.1-9.

BICUDO, S.D. Sumários de pesquisas. In: SIMPÓSIO PAULISTA DE OVINO-CULTURA, 6, 2002, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Associação Paulista dos Criadores de Ovinos, p.88-100.

BÜRSTEL, D. **Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie.** 2002. 142f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover.

BÜRSTEL, D. et al. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. ANNUAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR DOMESTIC ANIMAL REPRODUCTION. 5, 2001, Vienna. **Proceeding ...** Vienna: ESDAR Newsletter, v.6, p.53 - 54.

BÜRSTEL, D. et al. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. **Veterinary Record**, v.151, n.21, p.635-636, 2002.

CATT, S.L. et al. Birth of a male lamb derived from an in vitro matured oocyte fertilised by intracytoplasmic injection of a single presumptive male sperm. **Veterinary Record**, v.139, p.494-495, 1996.

COUGHBROUGH, C.A.; CASTELL, M.C. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. **Theriogenology**, v.50, p.263 - 267, 1998.

GARNER, D.L. Sex-sorting mammalian sperm: concept to application in animals. **Journal of Andrology**, v.22, p.519-526, 2001.

GEARHART, M.A. et al. Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. **Theriogenology**, v.30, 323-337, 1988.

GUTIERREZ-ADAN, A. et al. Ovine-specific Y-chromosome RAPD-SCAR marker for embryo sexing. **Animal Genetic**, v.28, p.135-138, 1997.

HAIBEL, G.K. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.3, p.597-613, 1990.

JOHNSON, L.A. Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the-art. **Animal Reproduction Science**, v.60 - 61, p.93 - 107, 2000.

OLIVEIRA, M.A.L. et al. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: SANTOS, M.H.B. et al. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.13. p.85-96.

REICHENBACH, H-D. et al. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In: SANTOS, M.H.B. et al. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.15. p.117-136.

SANTOS, M.H.B. et al. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In: _____. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap. 14. p.97-116.

WHITE, I.R. et al. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and determination of fetal numbers in sheep. **Veterinary Record**, v.115, p.140-143, 1984.

Tabela 1 – Identificação do sexo de fetos em fêmeas com gestação de 55 a 75 dias, através de exame ultra-sonográfico único.

Gestação	Fetos Sexados		Fetos não Sexados		Fetos Nascidos n	Acurácia do diagnóstico n (%)
	Macho n	Fêmea n	Macho n	Fêmea n		
Simples	10	6	-	-	16	16/16 (100,0)
Dupla	10	14	2	2	28	24/28 (85,7)
Total	20	20	2	2	44	40/44 (90,9)

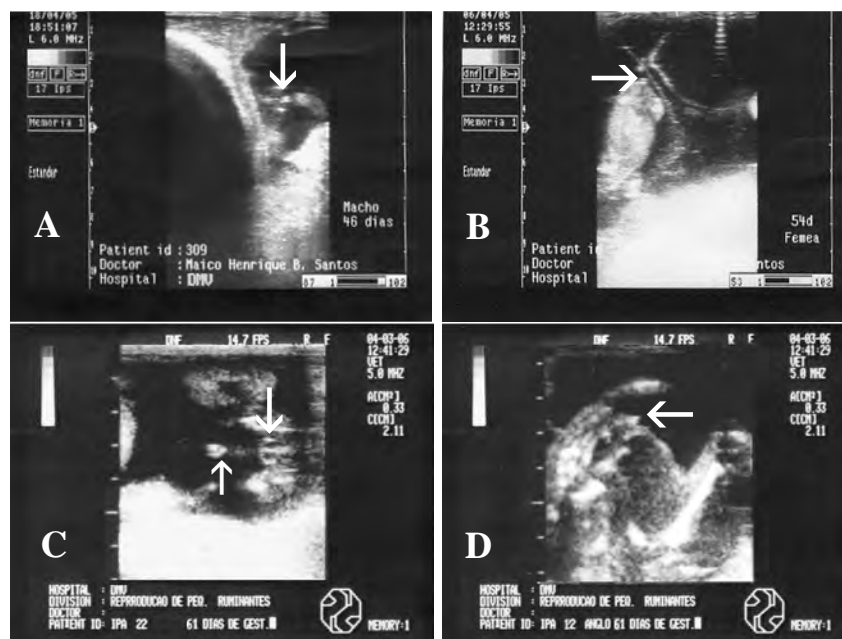


Figura 1 – Imagens do posicionamento do TG (↓) no feto macho (A) e (→) na fêmea (B). Feto macho (C) mostrando a bolsa escrotal (↓) e o prepúcio (↑) e outro feto fêmea (D) evidenciando a vulva (←).

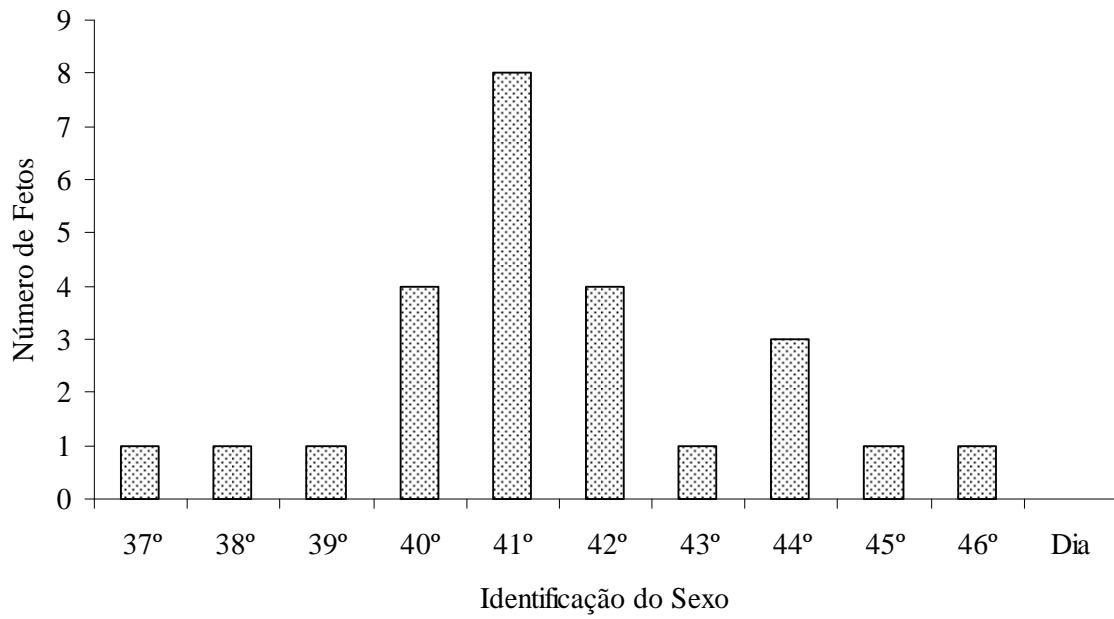


Figura 2 – Monitoramento diário da sexagem fetal levando em consideração o posicionamento do TG. O feto que apresentava o TG localizado caudalmente ao cordão umbilical era diagnosticado como macho e o que evidenciava o TG posicionado próximo à cauda era sexado como fêmea.

Determinação do período de migração do tubérculo genital em fetos ovinos das raças Damara, Santa Inês e 3/4 Damara-Santa Inês

Maico Henrique Barbosa dos Santos¹, Érica Paes Barreto Xavier de Moraes¹, Adauto Chiamenti¹, Jorge Motta da Rocha¹, Ney Rômulo de Oliveira Paula², Gustavo de Assis Silva³, Paulo Fernandes de Lima^{1,4}, Marcos Antonio Lemos de Oliveira^{1,4}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária/Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE),

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/Universidade Estadual do Ceará, Av. Paranjana, 1700, CEP 60740 000 Fortaleza-CE, Brasil

³Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S/A, Rua Eurípedes Tavares, nº 210, CEP 58013 290 João Pessoa-PB, Brasil

^{1,4}Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, CEP 52171 900 Recife-PE, Brasil (maloufrpe@uol.com.br; malo@ufrpe)

Resumo

O objetivo deste trabalho foi determinar, pela ultra-sonografia, o período de migração do tubérculo genital (TG) para estabelecer o momento ideal de sexar fetos das raças Damara, Santa Inês e 3/4 Damara-Santa Inês (¾ D-SI). Os exames foram realizados do 30º ao 60º dia de gestação em intervalos de 24 horas, por via transretal, utilizando-se transdutor linear de dupla frequência (6,0 e 8,0 MHz). O período de migração do TG variou de 38 a 51 nos fetos da raça Damara, 37 a 46 naqueles da raça Santa Inês e de 36 a 45 dias nos fetos ¾ D-SI, perfazendo uma média de $45,0 \pm 3,0$ dias nos da raça Damara, de $42,0 \pm 2,0$ dias nos da Santa Inês e de $39,2 \pm 2,3$ dias nos fetos ¾ D-SI. Foi registrado que o valor médio da migração do TG é significativamente mais precoce ($P < 0,05$) nos fetos ¾ D-SI do que nos das raças Damara e Santa Inês e mais tardia ($P < 0,05$) nos da raça Damara do que nos da raça Santa Inês. A acurácia da sexagem fetal nas gestações simples (100%) foi significativamente maior ($P < 0,05$) do que nas gestações duplas (88,5%). Os resultados permitem concluir que a migração do TG é diferente entre os fetos das raças Damara, Santa Inês e ¾ D-SI, que o período ideal de sexar os fetos dessas raças é a partir do 50º dia de gestação e que gestações duplas comprometem a acurácia do exame ultra-sonográfico.

Palavras chave: ovinos, sexagem fetal, prepúcio, bolsa escrotal, tetas, vulva.

Abstract

The objective of this work was to determine, by ultrasonography, the period of genital tubercle (GT) migration to establish the ideal period for sexing fetuses of Damara, Santa Inês and $\frac{3}{4}$ of Damara-Santa Inês ($\frac{3}{4}$ D-SI) breeds. The exams were performed from the 30th to the 60th Day of pregnancy in intervals of 24 hours, by transrectal via using a linear transducer of Double frequency (6.0 and 8.0 MHz). The period of GT migration varied from days 38 to 51 of pregnancy in fetuses of Damara, from days 37 to 46 in those of Santa Inês breed and from days 36 to 45 in $\frac{3}{4}$ D-SI fetuses, with an average of 45.0 ± 3.0 days in Damara breed, 42.0 ± 2.0 days in Santa Inês and 39.2 ± 2.3 days in $\frac{3}{4}$ D-SI fetuses. It was registered that the average value of GT migration is significantly earlier ($P < 0.05$) in fetuses $\frac{3}{4}$ D-SI than in Damara and Santa Inês breeds, and later ($P < 0,05$) in those of Damara breed than in Santa Inês. The accuracy of fetal sexing in single pregnancy (100%) was significantly higher ($P < 0.05$) than in twin pregnancies (88.5%).

Keywords: ovine, fetal sexing, prepuce, scrotal bag, teats, vulva

Introdução

A ovinocultura no Brasil que num passado recente era privilégio de poucas regiões, nos últimos anos tornou-se uma boa opção de investimento agropecuário até em locais tradicionalmente conhecidos como apropriados somente para a bovinocultura. Essa expansão tem motivado a importação de sêmen, embriões e animais com alta qualidade genética para acelerar o melhoramento animal (Bandeira et al., 2004).

O diagnóstico precoce da gestação e do sexo fetal pela ultra-sonografia qualifica e agrega valor ao comércio de animais gestantes com os fetos devidamente sexados (Reichenbach et al., 2004; Santos et al., 2004). Além disso, racionaliza tanto as ações de manejo, porque contribui para adequar um plano de nutrição específico para fêmeas com

gestação simples e múltipla, quanto às ações de comercialização de animais, porque permite descartar somente os animais não gestantes (Bandeira et al., 2004).

A sexagem fetal nos ovinos é uma técnica que despertou o interesse dos pesquisadores em outros países há alguns anos (Coughbrough & Castell, 1998; Bürstel et al., 2001/2002; Nan et al., 2001), entretanto, no Brasil ainda é insipiente e apenas recentemente é que tem recebido a atenção de poucos grupos de pesquisa (Andrade et al., 2004; Santos et al., 2005b; Santos et al., 2006). A acurácia no diagnóstico, que pode variar de 78 a 100% (Coughbrough & Castell, 1998; Bürstel et al., 2001/2002; Nan et al., 2001; Andrade et al., 2004; Santos et al., 2005b), pode ser comprometida nos casos de gestação múltipla (Bürstel, 2002; Oliveira et al., 2005; Santos et al., 2005ab), especialmente quando é levada em consideração apenas a localização do tubérculo genital (TG).

A determinação do período de migração do TG é um objetivo importante e que deve ser estabelecido porque evita que fetos machos sejam indevidamente sexados como fêmeas em decorrência do TG migrar posteriormente ao exame (Santos et al., 2005a). Em fetos ovinos da raça Santa Inês, a sexagem fetal, com base na localização do TG, já é possível no 37º dia de gestação e até o 46º todos os fetos podem estar devidamente sexados, mas é prudente recomendar que a sexagem fetal somente seja realizada após o 50º dia de gestação (Santos et al., 2005ab; Santos et al., 2006).

Considerando a escassez de literatura sobre a sexagem fetal nos pequenos ruminantes, teve-se o objetivo de determinar o período de migração do TG para estabelecer o período ideal de sexar fetos das raças Damara, Santa Inês e 3/4 Damara-Santa Inês (¾ D-SI) pela ultra-sonografia.

Material e Métodos

Neste trabalho foram utilizados 58 fetos, sendo, das raças Damara (n = 18), Santa Inês (n = 21) e $\frac{3}{4}$ D-SI (n = 19).

Para execução dos exames, as fêmeas foram contidas em posição de estação e os fetos foram diariamente monitorados, do 30° ao 60° dia de gestação, pela ultra-sonografia transretal, sempre pelo mesmo operador. Foi utilizado um aparelho ultra-sonográfico (modelo 240 Parus – Pie Medical) equipado com um transdutor linear (6,0 e 8,0 MHz) adaptado a um suporte de PVC para facilitar a manipulação no reto do animal, como sugerido por Oliveira et al. (2004). Uma impressora (Seikosha VP/1200 – Sony) também fazia parte do equipamento ultra-sonográfico.

Foi considerado feto macho aquele que o TG migrava no sentido caudo-cranial e posicionava-se imediatamente caudal ao cordão umbilical e feto fêmea aquele que o TG migrava no sentido crânio-caudal para posicionar-se abaixo da cauda. A confirmação do sexo fetal foi realizada tanto no decorrer dos exames ultra-sonográficos através da visualização das estruturas da genitália externa do macho (bolsa escrotal, pênis e prepúcio) e da fêmea (tetos, vulva e clitóris), quanto imediatamente após o nascimento (Figura 1).

A acurácia dos exames entre as gestações simples e duplas foi avaliada através do teste de Qui-quadrado com grau de liberdade 1 e os valores médios do dia da migração do TG entre as raças foram comparados pelo test-t, considerando-se o nível de 5% de significância.

Resultados

Foram registradas 12 gestações simples e 3 duplas nas ovelhas da raça Damara, 9 simples e 6 duplas nas da raça Santa Inês e 11 simples e 4 duplas nas $\frac{3}{4}$ D-SI. A acurácia da sexagem fetal foi significativamente menor ($P < 0,05$) nas gestações duplas (Tabela 1).

O período de migração do TG variou de 38 a 51 dias nos fetos da raça Damara, 37 a 46 naqueles da raça Santa Inês e de 36 a 45 nos fetos $\frac{3}{4}$ D-SI (Figura 2), perfazendo uma média de $45,0 \pm 3,0$ dias nos da raça Damara, de $42,0 \pm 2,0$ dias nos da Santa Inês e de $39,2 \pm 2,3$ dias nos fetos $\frac{3}{4}$ D-SI. Foi registrado que o valor médio da migração do TG é significativamente mais precoce ($P < 0,05$) nos fetos mestiços do que nos das raças Damara e Santa Inês e mais tardia ($P < 0,05$) nos da raça Damara do que nos da raça Santa Inês.

Discussão

Considerando apenas o valor médio do período de migração do TG obtido neste trabalho, seria possível recomendar a sexagem fetal a partir do 40º dia da gestação nos animais $\frac{3}{4}$ D-SI e a partir do 45º nos das raças Santa Inês e Damara. Em ovinos da raça Santa Inês, Santos et al. (2006) registraram uma média de $41,4 \pm 2,1$ dias, mas mesmo assim, preconizaram sexar a partir do 50º dia, conforme havia sido anteriormente recomendado por Santos et al. (2005a), em decorrência do momento da migração do TG sofrer variações.

Mesmo após essa abordagem é oportuno comentar que nada impede do TG de algum feto poder eventualmente migrar após o 50º dia como foi verificado nos da raça Damara. Por isso, um dos grandes desafios da sexagem fetal nos pequenos ruminantes é determinar precocemente o momento ideal de visualizar o TG definitivamente posicionado para maximizar a acurácia dessa técnica pela ultra-sonografia (Santos et al., 2006). Os poucos trabalhos conduzidos para definir o período de migração do TG em ovinos (Santos et al., 2005b, Santos et al., 2006) e caprinos (Oliveira et al., 2005) indicam existir diferença não somente entre espécies, mas entre indivíduos de uma mesma raça, de uma mesma gestação e até mesmo, segundo Santos et al. (2006), entre fetos provenientes de monta natural e de transferência de embriões congelados.

É importante ressaltar que a sexagem fetal, com base unicamente no posicionamento do TG, requer habilidade e experiência do operador, além de equipamento ultra-sonográfico apropriado que permita qualidade de imagem para distinguir as estruturas anatômicas responsáveis pela sexagem. Essa recomendação é particularmente importante quando se trata de feto fêmea, pois a distância a ser percorrida pelo TG, do seu posicionamento inicial até o final, é bem menor do que no feto macho. Se essa diferença de posicionamento é difícil de ser visualizada até em fetos obtidos em matadouro, num feto com menos de 60 dias de vida é uma tarefa ainda mais difícil de ser corretamente concretizada utilizando apenas imagens ultra-sonográficas. Por essa razão ocorrem falsos diagnósticos, cuja frequência pode ser diminuída através de um exame mais tardio que permita visualizar o TG definitivamente posicionado ou identificar as estruturas da genitália externa que resultam da sua diferenciação.

Outro importante desafio da sexagem fetal é com relação à acurácia do exame ultra-sonográfico, uma vez que nos pequenos ruminantes, a influência de fatores que podem dificultar o exame é maior do que nas espécies eqüina e bovina. Na dependência do período e do tipo de gestação, nem sempre é possível quantificar todos os fetos de forma precisa, como por exemplo, nas gestações múltiplas e, muito menos, identificar o sexo de todos num mesmo exame. Em três gestações gemelares deste trabalho, apesar dos exames terem sido realizados durante 30 dias consecutivos, foi impossível sexar um feto de cada gestante. Como no nascimento foi constatado tratarem-se de fetos do mesmo sexo, admite-se que se fossem gestações de sexos diferentes, o diagnóstico teria sido corretamente emitido, mesmo que em dias distintos de exames.

Segundo Reichenbach et al. (2004), a necessidade de exames seriados, principalmente nas gestações múltiplas, limita a adoção da ultra-sonografia na rotina de exames ultra-sonográficos em condições de campo. Os constantes deslocamentos, independente da distância a ser percorrida, oneram o custo/benefício dos exames e pode inviabilizar uma

atividade que, se bem administrada, é de grande importância para a produção animal em decorrência de maximizar práticas de manejo e de planejamento comercial da propriedade, conforme reportaram Haibel (1990) e Reichenbach et al. (2004).

A expectativa inicial de ser registrada diferença entre a acurácia das gestações simples e múltiplas foi confirmada neste trabalho. As maiores dificuldades na sexagem ocorreram nas gestações múltiplas, achado que reforça as considerações de White et al. (1984), Gearhart et al. (1988) e Haibel (1990), bem como o relato de Bürstel et al. (2001) ao propor, nos casos de gestações múltiplas, a realização de exames em dois períodos consecutivos, sendo o primeiro efetuado entre o 50º e o 56º dia e o segundo entre o 66º e o 70º dia.

A acurácia total obtida neste trabalho foi similar àquelas registrados por Oliveira et al. (2005) e Santos et al. (2005b), além de permitir o comentário de que a via transretal é eficiente para a sexagem de fetos pela ultra-sonografia nos primeiros 60 dias de gestação. É também possível enfatizar que esse resultado contraria o de Bürstel et al. (2002), os quais relataram não ser recomendado utilizar essa via de exame nas gestações múltiplas. A experiência do operador e a qualidade do equipamento ultra-sonográfico disponível, como já anteriormente ressaltadas, são fundamentais para o êxito do diagnóstico do sexo fetal em qualquer período de gestação. No caso específico deste trabalho, ao se utilizar um transdutor linear com dupla frequência, é permissível admitir que o equipamento deva ter contribuído para os resultados obtidos nas gestações simples terem sido mais expressivos do que os obtidos por Coughbrough & Castell (1998).

Os resultados deste trabalho permitem concluir que a migração do TG é diferente entre os fetos das raças Damara, Santa Inês e ¾ D-SI, bem como que o período ideal de sexar os fetos dessas raças é a partir do 50º dia de gestação e ainda que as gestações duplas comprometem a acurácia do exame ultra-sonográfico. Adicionalmente pode-se também concluir que a ultra-sonografia em tempo real é eficiente para sexar fetos ovinos nos

primeiros 60 dias da gestação e que exames repetidos em curtos intervalos não devem ser implementados na rotina de trabalho porque não conferem maior acurácia ao exame ultrasonográfico.

Referências

ANDRADE, J.C.O, GUIDO, S.I., SOUSA, B.P.A., 2004. Sexagem fetal em ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.185.

BANDEIRA, D.A., SANTOS, M.H.B., CORREIA NETO, J., NUNES, J.F., 2004. Aspectos da caprino-ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivo e reprodutivo. In: SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap. 1. p.1-9.

BÜRSTEL, D. **Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie**. 2002. 142f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover.

BÜRSTEL, D., MEINECKE-TILLMANN, S., MEINECKE, B., 2001. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. ANNUAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR DOMESTIC ANIMAL REPRODUCTION. 5, 2001, Vienna. **Proceeding ...** Vienna: ESDAR Newsletter, v.6, p.53 - 54.

BÜRSTEL, D., MEINECKE-TILLMANN, S., MEINECKE, B., 2002. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. **Veterinary Record**, v.151, n.21, p.635-636.

COUGHBROUGH, C.A.; CASTELL, M.C. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. **Theriogenology**, v.50, p.263 - 267, 1998.

GEARHART, M.A., WINGFIELD, W.E.; KNIGHT, J.A.; SMITH, J.A.; DARGATZ, D.A.; BOON, J.A; STOKES, C.A., 1988. Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. **Theriogenology**, v.30, 323-337.

HAIBEL, G.K. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.3, p.597-613, 1990.

OLIVEIRA, M.A.L., REICHENBACH, H-D., SANTOS, M.H.B., TENÓRIO FILHO, F. 2004. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.13. p.85-96.

OLIVEIRA, M.A.L., SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., MOURA, R.T.D., CHIAMENTI, A., RABELO, M.C., BEZERRA, F.Q.G., LIMA, P.F., 2005. Early identification of fetal sex and determination of the genital tubercle migration's day in dairy goats using ultrasound. **Acta Scientiae Veterinariae**, 32, 459.

REICHENBACH, H-D., SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., MEINECKE-TILLMANN, S., BÜRSTEL, D-M., 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultrasonografia. In: SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.15. p.117-136.

SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F., MORAES, E.P.B.X., CHALHOUB, M., BICUDO, S.D., 2004. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In: OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap. 14. p.97-116.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., GUIDO, S.I., BEZERRA, F.Q.G.B., MELO, A.N., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L., 2006. Sexagem Fetal em Ovelhas Santa Inês por Ultra-sonografia. **Ciência Rural**, v.36, n.2, p.573-578, 2006.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., MOURA, R.T.D., LIMA, P.F., REICHENBACH, H-D., OLIVEIRA, M.A.L., 2005a. Early identification of the fetal sex in small ruminants by ultrasonography. **Acta Scientiae Veterinariae**, 32, 131-134.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., MOURA, R.T.D., CHIAMENTI, A., BEZERRA, F.Q.G., AGUIAR FILHO, C.R., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L., 2005b. Sexagem fetal em cabras através da ultra-sonografia. **Acta Scientiae Veterinariae**, 32, 247.

WHITE, I.R. et al. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and determination of fetal numbers in sheep. *Vet. Record*, v.115, p.140-143, 1984.

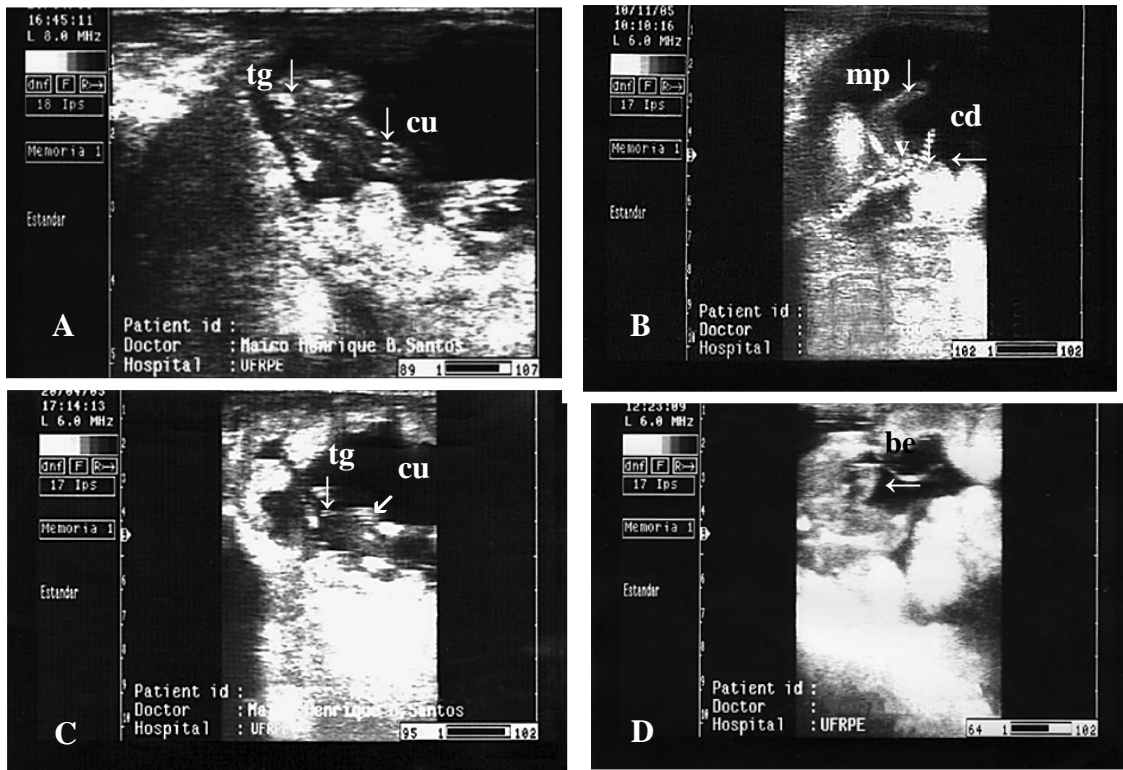


Figura 1 – Imagens de fetos do sexo feminino (A e B), evidenciando tubérculo genital (**tg**), cordão umbilical (**cu**), membros posteriores (**mp**), cauda (**cd**) e vulva (**v**). Imagens de fetos do sexo masculino (C e D), mostrando o tubérculo genital (**tg**), cordão umbilical (**cu**), e bolsa escrotal (**be**).

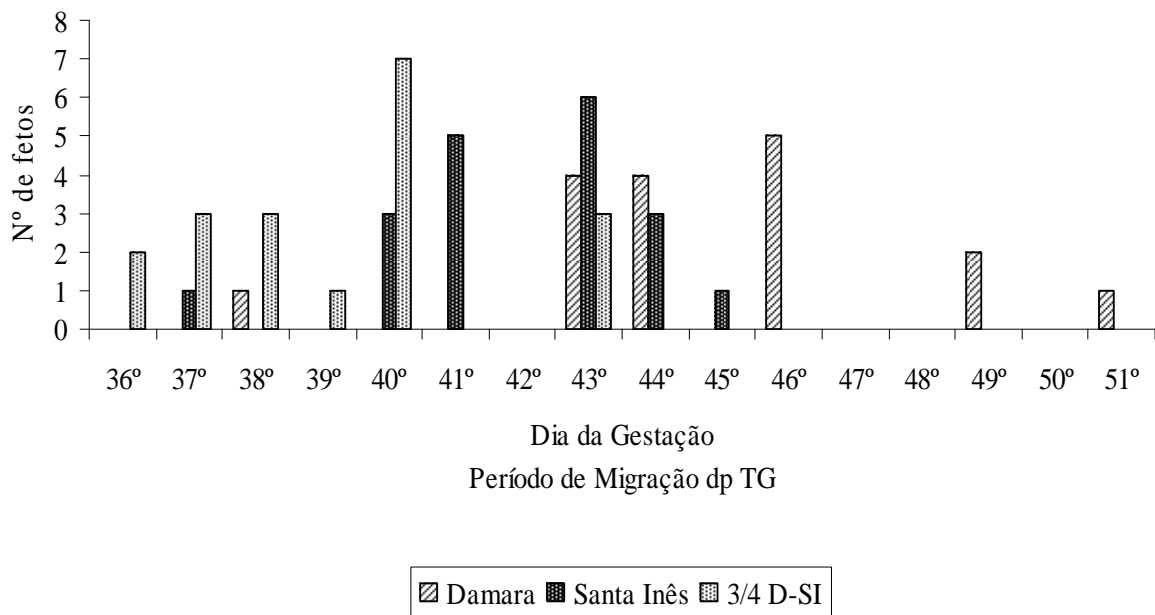


Figura 2 - Monitoramento diário da sexagem fetal em ovinos das raças Damara, Santa Inês e $\frac{3}{4}$ D-SI levando-se em consideração o posicionamento do TG.

Tabela 1 - Sexagem fetal em ovinos das raças Damara, Santa Inês e $\frac{3}{4}$ D-SI após monitoramento ultra-sonográfico diário, do 30° ao 60° dia de gestação.

Raça	Feto Sexado Gestação		Feto não Sexado Gestação		Feto Nascido Gestação		Acurácia do Diagnóstico Gestação	
	Simples	Dupla	Simples	Dupla	Simples	Dupla	Simples	Dupla
	n	n	n	n	n	n	n (%)	n (%)
Damara	12	5	-	1	12	6	12/12 (100)	5/6 (83,3)
Santa Inês	9	10	-	2	9	12	9/9 (100)	10/12 (83,3)
$\frac{3}{4}$ D-SI	11	8	-	-	11	8	11/11 (100)	8/8 (100)
Total	32	23	-	3	32	26	32/32 (100) ^a	23/26 (88,5) ^b

^{ab} Letras diferentes na mesma linha indica diferença ($P < 0,05$)

Determination of the genital tubercle migration in Morada Nova sheep fetuses by real time ultrasonography

MHB Santos¹, MC Rabelo¹, SI Guido¹, JNC Torreão², ES Lopes Júnior³,
VJF Freitas³, PF de Lima^{1,4}, MAL Oliveira^{1,4}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária - Universidade Federal Rural de Pernambuco,

²Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia – Universidade Federal de Campina Grande,

³Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução - Universidade Estadual do Ceará,

⁴Departamento de Medicina Veterinária - Universidade Federal Rural de Pernambuco
Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171 900 Recife-PE, Brasil

Abstract

The aim of this study was to determine the period of genital tubercle (GT) migration of Morada Nova sheep fetuses (n = 117) from natural mating (NM) and frozen embryo (ET). The exams were a **dual-frequency linear** transducer (6.0 and 8.0 MHz) from day 30 to 54 of gestation 48-h intervals. Sexing accuracy for triple pregnancies (77.8%) was significantly inferior ($P < 0.05$) to single (100%) and twin (92.9%) pregnancies. There was no difference between accuracies of single (92.3%) and twin (50.0%) pregnancies. The average period of GT migration for fetuses from NM 39.5 ± 2.9 and 48.5 ± 3.3 days, migration differs between fetuses from NM and ET and the sex of fetuses is 50 for NM and ET fetuses, respectively. In multiple pregnancies, the GT of fetuses from ET start to migrate 96 h later even if they belong to the same gender. Multiple pregnancies compromise the sexing accuracy by ultrasonography.

Introduction

In Brazil, there are 14 million sheep, 56% located in the northeast region (IBGE, 2002). The Morada Nova breed still deserves special attention due to its (Rajab, 1992) in comparison to the other local breeds.

The risk of extinction and the need to preserve the Morada Nova breed have motivated some governmental organs to invest in breed preservation, adopting techniques to accelerate proliferation (Lopes Junior, 2005). However, the high financial investment of high-tech

practices of reproduction demands an attractive market that can assure the return of the invested capital (Bandeira et al., 2004).

Early pregnancy diagnosis and fetal sexing by ultrasonography are that can improve the reproductive system, rationalizing the management and the commercialization of animals. Thus, the interest in offering this specialized service has increased in Brazil, either because it provides certainty to discard animals or because it allows one to pregnant (single or multiple) and non-pregnant value pregnant carrying fetuses to be traded (Reichenbach et al., 2004; Santos et al., 2004).

Fetal sexing in sheep is a technique which researchers of many countries have paid attention to for some years (Coughbrough and Castell, 1998; Bürstel et al., 2001/2002; Nan et al., 2001), although in Brazil it is still an insipient technique and only recently has received attention of few research groups (Andrade et al., 2004; Santos et al., 2005b; Santos et al., 2006).

The vary from 78 to 100% (Coughbrough and Castell, 1998; Bürstel et al., 2001/2002; Nan et al., 2001; Andrade et al., 2004; Santos et al., 2005b) and can be affected by cases of multiple pregnancies (Bürstel, 2002; Oliveira et al., 2005; Santos et al., 2005ab), specially when only the GT location is .

The period of the GT migration is a vital parameter and must be verified to avoid male fetuses classified as females due to the GT migration after the exam (Santos et al., 2005a). For Santa Inês breed, fetal sexing based on GT location is possible day 37 of pregnancy day 46 recommendation is to from day 50 (Santos et al., 2005ab; Santos et al., 2006).

Due to the lack of references about fetal sexing in small ruminants, especially GT migration, this study aimed to identify the period of GT migration for Morada Nova fetuses from natural mating (NM) and embryo transfer (ET) in order to establish the ideal period to

Material and Methods

In this study, 92 Morava Nova ewes were ,57 were of the red variety submitted to 35, which did not have a defined breed, received Morada Nova embryos. Of these embryos, 21 were of red variety and 14 were of white variety. The animals belonged to the program of breed conservation of the Federal University of Campina Grande and State University of Ceará.

regnancy diagnosis by transrectal ultrasonography³⁰ 54 of pregnancy 48-h intervals¹⁰² fetuses of red Morada Nova breed from 51 (NM) and 15 fetuses (10 red and 5 white) from 14 (ET). The gender was identified based on the presence of the GT or at least one external genital structure (Figure 1).

Transrectal ultrasound was carried out with a 240 Parus (Pie Medical) apparatus equipped with a linear transducer (6.0 and 8.0 MHz) that was adapted to a PVC support to facilitate manipulation of the animal's rectum as suggested by Oliveira et al. (2004). Pictures obtained by ultrasonography were printed using a Sony printer (Seikosha VP/1200). examinations standing position.

The accuracy of the was evaluated through the chi-square test and the average values for the period of GT migration of fetuses from NM and ET were compared the t-test, considering as significance.

Results

For the red Morada Nova was submitted to NM, 15 single and 36 multiple pregnancies (21 twin and 15 triple) pregnancies ($P < 0.05$) than for single and twin pregnancies.

For there were 10 single pregnancies of red Morada Nova fetuses⁴ and 1 twin of white Morada Nova fetuses (Table 2) . 2 males were sexed as females up to day 54 of pregnancy.

The period of the GT migration in red Morada Nova fetuses from NM from 36 to 46 , resulting in average 39.5 ± 2.9 days and white Morada Nova fetuses from ET varied from 42 to 52 48.5 ± 3.3 days (Figure 2). There was difference between the values of these migration periods of GT.

Discussion

In order to diagnose pregnancy and in small ruminants reproductive management . Among the variables that can threaten the success of diagnosis, multiple pregnancies are highlighted due to difficult or fetal sexing but fetal quantification in a single exam, as reported by Bürstel (2002) and Reichenbach et al. (2004).

However, the data of this study a different scenario to these authors because the accuracy of fetal sexing was significantly reduced only in triple pregnancies the percentage of twin pregnancies of submitted to NM was similar to those reported by Andrade et al. (2004) for single pregnancies in Dorper . For the Santa Inês breed, Santos et al. (2005/2006) obtained 100% accuracy in single pregnancies and 85.7% in twin . or fetuses from NM the accuracy of exam was because it was not possible to identify the sex of fetuses, distinctly to what occurred to those from were mistakenly classified as females. Considering that out of all the monitored fetuses there were only two mistakes in , the results obtained allow one to believe that transrectal is efficient for the fetal sexing to be done in the first two months of pregnancy. This information disagrees with Bürstel et al. (2002) who do not recommend multiple pregnancies.

The expertise of the operator and the quality of the available ultrasonographic device were vital to the success of fetal sexing in every stage of pregnancy. the use of a dual-frequency linear transducer may have contributed for the results than those obtained by Coughbrough and Castell (1998) and Bürstel (2002). This hypothesis is supported by data

obtained by Oliveira et al. (2005), which the same device dairy does verified that the accuracy of fetal sexing is significantly diminished in pregnancies.

As already by Santos et al. (2005ab; 2006) and Oliveira et al. (2005), repeated exams in short intervals not increase the accuracy of fetal sexing. The 48-h intervals were done since studies aimed to define the migration period of GT, although this high frequency of examination is not field conditions. The locomotion and distance demanded by technical visits can raise the cost (lower benefitcost ratio), threatening the viability of this operation that, if well managed, can have a vital role in animal production because it maximizes management practices and improves the commercial planning of the property, according to Haibel (1990) and Reichenbach et al. (2004).

The early determination of the ideal moment to visualize the GT in its final position is an important challenge and has deserved special attention from some researchers in order to maximize the accuracy of fetal sexing by ultrasonography (Santos et al., 2006). The scarcity of studies defining the period of GT migration in sheep (Santos et al., 2005b, Santos et al., 2006) and goats (Oliveira et al., 2005) indicate the existence of differences not only among species among individuals of the same breed and even in the same pregnancy. Data from our research group (not published yet) evaluating Dorper fetuses also show that the GT migration of fetuses from occurs earlier than those from .

For equine species, Taveiros et al (2003) verified that the development of transferred embryos is later than of those from NM in the first 30 days of pregnancy. In this study it was clear that the GT migration in fetuses from occur later than those from NM, which is supported by Taveiros et al (2003) who attributed this difference to the embryo handling outside the uterine environment that determines the latency period of embryos, or the initial findings of our research group when analyzing unfrozen embryos Dorper breed.

It is important to emphasize fetal sexing based only on the GT location demands a skilled and experienced operator to quality. This recommendation is even more important when the fetal gender is female since the GT in this case has to migrate a shorter distance than for males. Some fetuses identified as females be born males later one visualize the GT or after the differentiation of one of the external genital structures.

Although is to sex fetuses from NM day 38 48, ultrasonography be day 50 as proposed by Santos et al. (2005a). Nevertheless, this suggestion can be applied to fetuses from, which should be sexed at least from day 55 of pregnancy. Even considering that the GT of two fetuses have migrated day of pregnancy, this suggestion is linked to the fact that the GT migration of two male fetuses had occurred only after day 54 and there were mistakes in classifying them as females. It is interesting to comment that one of these fetuses was in a twin pregnancy and the other had been properly sexed day 50. This finding proves the possibility of the GT of fetuses of the same gender and same pregnancy can migrate with more than 96 hr of difference.

The results allow one to conclude that GT migration differs between NM and ET, and that the adequate moment for them to be sexed is day 50 and 55 of pregnancy. Other conclusions are GT migration of fetuses from ET occurs later than in those from NM fetuses of multiple pregnancies can have their GT migrating with a gap of 96 hours even if they belong to the same gender and pregnancies threaten the accuracy of.

References

- Andrade, J.C.O, Guido, S.I., Sousa, B.P.A., 2004. Sexagem fetal em ovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, 32, 185.
- Bandeira, D.A., Santos, M.H.B., Correia Neto, J., Nunes, J.F., 2004. Aspectos da caprino-

- ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivo e reprodutivo. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.), **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. Varela, São Paulo, pp.1-9.
- Bürstel, D., 2002. Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie. Hannover: Thesis (Doctor in Veterinary Medicine), College of Veterinary Medicine of Hannover.
- Bürstel, D., Meinecke-Tillmann, S., Meinecke, B., 2001. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. In: 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Vienna, Austria. Vienna: ESDAR Newsletter, pp.53-54.
- Bürstel, D.M., Meinecke-Tillmann, S., Meinecke, B., 2002. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. *Vet. Record*, 151, 635-636.
- Coughbrough, C.A.; Castell, M.C., 1998. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. *Theriogenology*, 50, 263 - 267.
- Haibel, G.K., 1990. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 3, 597-613.
- IBGE, 2002. Anuário Estatístico do Brasil, Rio de Janeiro, 58, 3-54.
- Lopes Júnior, E.S., 2005. Colheita, criopreservação e transferência de embriões ovinos da

raça Morada Nova (variedade branca) em um programa de preservação. Fortaleza: Tese (Doutor em Ciências Veterinárias), Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará.

Nan, D., Van Oord, H.A., Taverne, M.A.M., 2001. Determination of foetal gender in sheep by transabdominal ultrasonographic scanning. In: 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Vienna, ESDAR Newsletter, pp.70.

Oliveira, M.A.L., Reichenbach, H-D., Santos, M.H.B., Tenório Filho, F. 2004. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.) Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. Varela, São Paulo, pp.85-96.

Oliveira, M.A.L., Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Moura, R.T.D., Chiamenti, A., Rabelo, M.C., Bezerra, F.Q.G., Lima, P.F., 2005. Early identification of fetal sex and determination of the genital tubercle migration's day in dairy goats using ultrasound. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 459.

Reichenbach, H-D., Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Meinecke-Tillmann, S., Bürstel, D-M., 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.) Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. Varela, São Paulo, pp.117-136.

Rajab, M.H., Cartwright, T.C., Dahm, P.F., Figueiredo, E.A.P., 1992. Performance of three

tropical hair sheep breeds. *Journal of Animal Science* 70, 3331-3359.

Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Guido, S.I., Bezerra, F.Q.G.B., Melo, A.N., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L., 2006. Fetal sexing in Santa Inês ewes by ultrasonography. *Ciência Rural*, 36, 573-578.

Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Moura, R.T.D., Lima, P.F., Reichenbach, H-D., Oliveira, M.A.L., 2005a. Early identification of the fetal sex in small ruminants by ultrasonography. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 131-134.

Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Rabelo, M.C., Melo, A.N., Lima, P.F. Oliveira, M.A.L., 2005b. Fetal sexing by ultrasonography in ewe of Santa Inês breed. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 247.

Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F., Moraes, E.P.B.X., Chalhoub, M., Bicudo, S.D., 2004. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.) *Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha*. Varela, São Paulo, pp.97-116.

Taveiros, A.W., Oliveira, M.A.L., Tenório Filho, F., Lima, P.F., Santos, M.H.B., 2003. Ultrasonographic monitoring of 103 recipient mares of different reproductive status during the first 30 days after embryo transfer. *Vet. Record*, 153, 558-560.

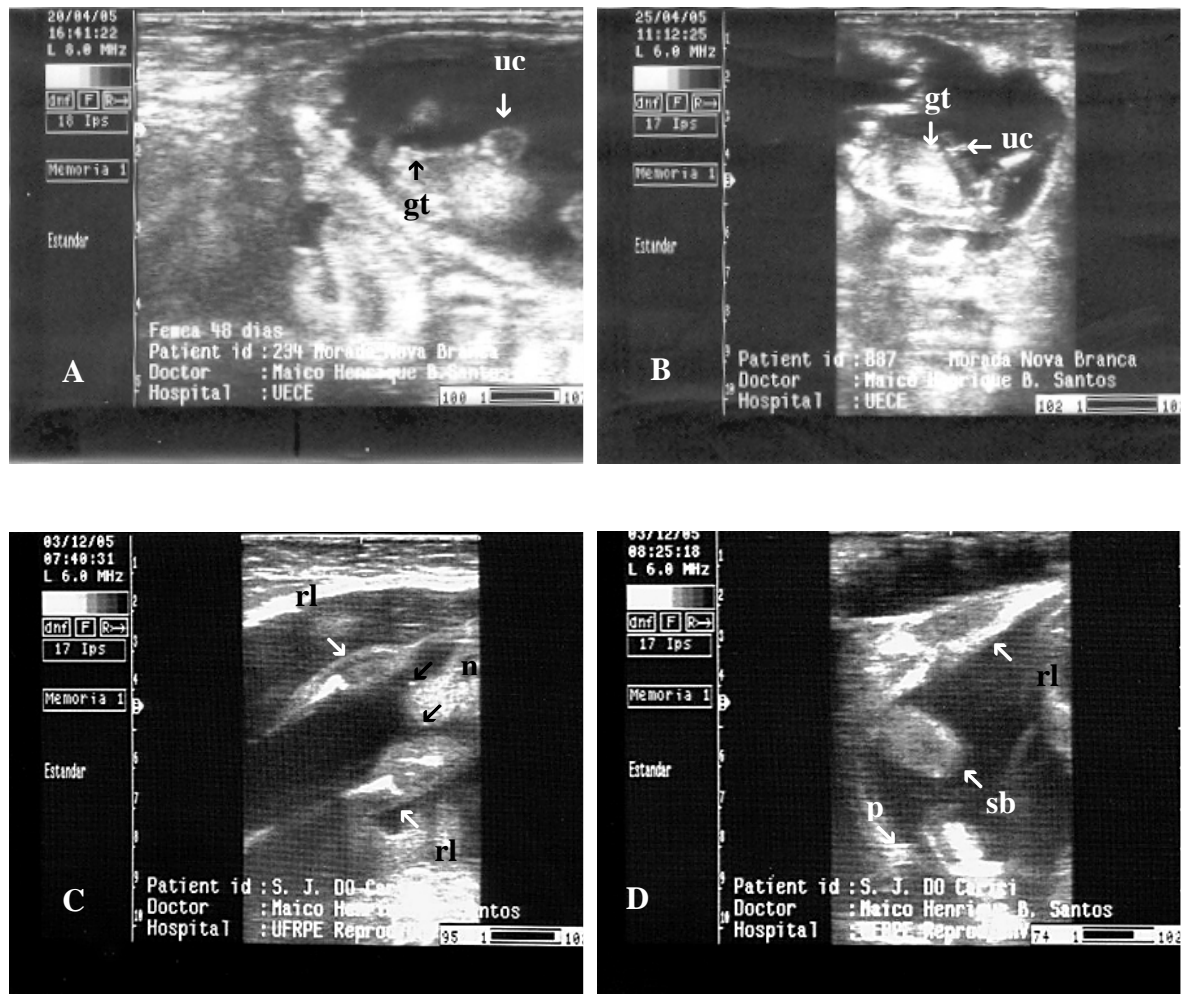


Figure 1 – Images of female fetus (**A and C**) depicting the genital tubercle (**gt**), umbilical cord (**uc**), rear limbs (**rl**) and nipples (**n**). Images of male fetus (**B and D**) showing the genital tubercle (**gt**) near the umbilical cord (**uc**), scrotal bag (**sb**) and prepuce (**p**).

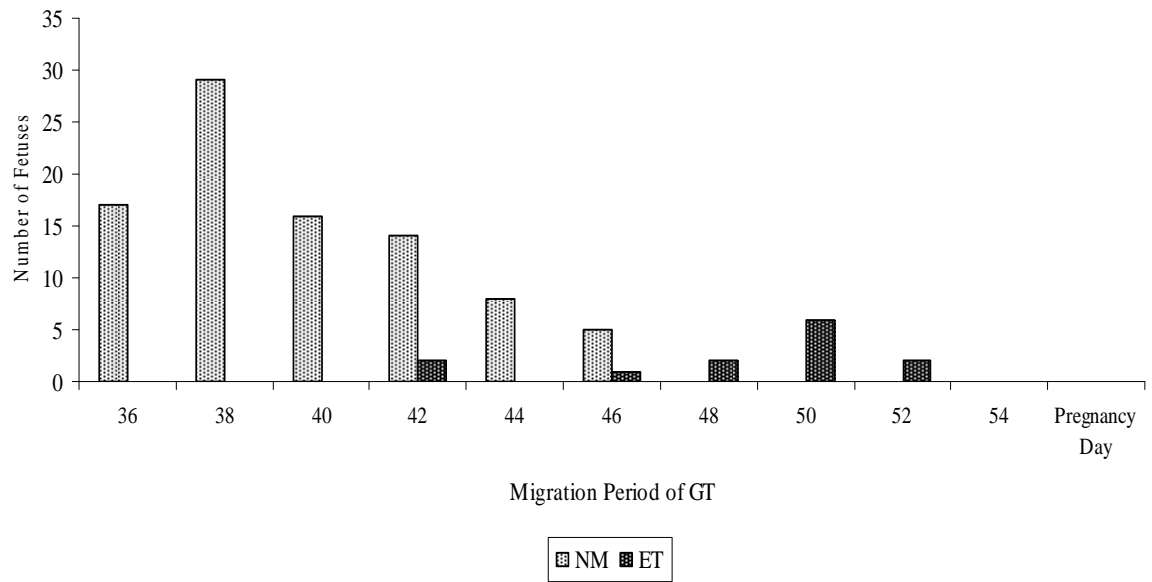


Figure 2 – Determination of fetal gender in Morada Nova fetuses from natural mating (NM) and transfer (ET) by the location of nt.

Table 1 – Fetal sexing in sheep of red Morada Nova breed from natural mating after monitoring by ultrasonography with 48-h intervals from day 30 to 54 of pregnancy.

of pregnancy	Fetuses correctly sexed	Festuses not sexed	Born Fetuses	n (%)
	n	n	n	
Single	15	-	15	15/15 (100) ^a
Twin	39	3	42	39/42 (92.9) ^a
Tripled	35	10	45	35/45 (77.8) ^b
Total	89	13	102	89/102 (87.2)

^{ab}Different letters in the same column ($P < 0.05$)

Table 2 – Fetal sexing in Morada Nova sheep, red and white varieties, from transfer of frozen/unfrozen embryos, after in 48-h intervals from day 30 to 54 of pregnancy.

of pregnancy	Fetuses correctly sexed	Festuses not sexed	Born Fetuses	n (%)
	n	n	n	
Single	12	1	13	12/13 (92.3)
Twin	1	1	2	1/2 (50.0)
Total	13	2	15	13/15 (86.7)

Sexing of Dorper sheep fetuses derived from natural mating and embryo transfer by ultrasonography

**M.H.B. Santos^a, E.P.B.X. Moraes^a, C.I.M. Gonzalez^a, A.N. Melo^a, F.Q.G. Bezerra^b,
S.I. Guido^a, H.-D. Reichenbach^c, P.F. Lima^{a, c}, M.A.L. Oliveira^{a, d*}**

^a*Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária – Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)*

^b*Empresa Estadual de Pesquisa e Agropecuária da Paraíba S/A, Rua Eurípedes Tavares, nº 210, CEP 58013 290 João Pessoa-PB, Brasil*

^b*Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft/LfL, Prof.-Dürrwaechter-Platz 1, 85586 Poing-OT/Grub, Germany*

^{a, d}*Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, CEP 52171 9000 Recife-PE, Brasil*

Abstract

In order to improve fetal sexing in Dorper sheep breed, the objective of the present study was to determine, by repeated ultrasonographs, the migration period of genital tubercle (GT) in sheep fetuses (n = 51) derived from natural mating and to compare the accuracy of a single examination to repeated examinations at short intervals. Fetal sex was determined based on the GT location in experiments EI and EII, and by identification of anatomical structures of external genitalia in experiment EIII. Transrectal ultrasound was performed using a double-frequency linear transducer (6.0 and 8.0 MHz). In EI (n = 23) and EII (n = 18), the fetuses were monitored at 48-hour intervals from the 30th to 60th day of gestation. In EIII (n = 10), the fetuses were examined only on the 65th day of gestation. The accuracy of fetal sexing was 91.3% (21 fetuses sexed/23 quantified) in EI, 88.9% (16 sexed/18 quantified) in EII, and 100% (10 sexed/10 quantified) in EIII, without significant difference (P > 0.05) between experiments. Migration of the GT occurred earlier (P < 0.05) in fetuses produced by natural mating (43.0 ± 2.8 days) than in those derived from embryo transfer (46.1 ± 4.7 days). The results allow one to conclude that fetal sexing can be done from the 50th day onward in fetuses produced by natural mating and from the 60th day onward in fetuses derived from frozen

embryos. One also concludes that repeated ultrasonographic exams in short time intervals do not maximize the accuracy of fetal sexing. In addition, real-time ultrasonography is a reliable tool for fetal sex determination in sheep after day 50 of gestation taking into account both the location of the GT and the identification of external genital structures.

Key words: genital tubercle; prepuce; scrotal bag; nipples; genital swelling.

1. Introduction

Brazilian sheep farming has intensified known fetal sexing in cattle (Curran, 1992; Stroud, 1996) and horses (Merkt & Moura, 2000) but in small ruminants is still hindered by the high variation (Coubrough & Castell, 1998; Bürstel et al., 2001, 2002; Nan et al., 2001; Andrade et al., 2004; Santos et al., 2005b) especially multiple pregnancies (Bürstel, 2002; Oliveira et al., 2005; Santos et al., 2005a,b) when the diagnosis is only based on the location of the genital tubercle (GT). Thus, the determination of the exact day of GT migration is still one of the main challenges of fetal sexing in small ruminants (Santos et al., 2006).

In sheep of the Santa Inês breed, location of the GT between days 37 to 46 of gestation (Santos et al., 2006). However, the GT can migrate day 50 of gestation due to individual variation and differences between pregnancies derived from natural mating (Santos et al., 2006).

The objectives of the present study was to determine the period of GT migration and to compare the accuracy of a single examination to repeated examinations at short intervals to establish the sex.

2. Material and Methods

In the present study, divided into three experiments (EI, EII and EIII), 51 Dorper fetuses from 39 pregnant ewes were examined. EI consisted of 13 Dorper females a farm in

Gurjão situated in the Cariri region of Paraíba State. EII consisted of 16 Santa Inês recipient ewes a farm in Gravatá and EIII comprised 10 recipient ewes of the same breed farm in Sairé, both situated in the Agreste region of Pernambuco State.

In EI, females were submitted to controlled natural mating, whereas in EII and EIII the females received embryos collected 7 days after frozen according to Andrade et al., (2005) were transferred to recipient ewes by a technique adapted for goats Freitas et al. 2002).

The 23 fetuses in EI and 18 fetuses in EII were monitored from 30th to 60th day of gestation at 48-h intervals. In both experiments, fetuses were diagnosed as males when the GT was positioned immediately caudal to the umbilical cord and as females when the GT was positioned below the tail (Figure 1). The 10 fetuses in EIII were examined only once the 65th day of gestation. Fetal sex was determined based on the visualization of the external genitalia, including the prepuce, penis and scrotal bag in males and nipples, vulva and clitoris in females (Figure 1).

In the last week of pregnancy the females were transferred to individual boxes to confirm the sex of fetuses immediately after birth.

Transrectal ultrasound was carried out with a 240 Parus (Pie Medical) apparatus equipped with a linear transducer (6.0 and 8.0 MHz) was adapted to a PVC support to facilitate manipulation of the animal's as suggested by Oliveira et al. (2004) were printed a Sony printer (Seikosha VP/1200). All examinations were performed by the same operator with the animals in standing position.

The accuracy of the diagnosis was analyzed by the chi-square test. Mean values of the day of GT migration in EI and EII were compared by the *t*-test. The level of significance was set at 5%.

3. Results

In EI, migration of the GT was observed on the 38th day of gestation and 48th day all fetuses were sexed (Figure 2). In EI, the GT of three fetuses of single were observed between the limbs and close to the tail, suggest they were females. n the 40th day, the GT of one of these fetuses migrated to a position close to the umbilical region, indicating a male fetus. In EI, two pregnancies diagnosed as twins gave birth to single fetuses.

In EII, ultrasonographic monitoring on alternate days allowed the determination of fetal sex on 36th day of gestation onwards. owever, only on the 58th day the sex of all fetuses determined (Figure 2). In this experiment, a male fetus was initially sexed as a female until 46th day. Two fetuses were identified as female on the 46th day, but the definitive diagnosis of one of them was performed the 58th day of pregnancy. In the two twin pregnancies, only one female fetus was diagnosed correctly in each case and the two non-sexed fetuses were also born female (Table 1).

The mean time of GT migration was significantly shorter ($P < 0.05$) in EI (43.0 ± 2.8 days) compared to EII (46.1 ± 4.7 days).

In EIII, all fetuses of single pregnancies were correctly sexed (Table 1).

4. Discussion

The identification of the ideal time to visualize the GT definitively positioned by ultrasonography in small ruminants is vital in order to obtain higher accuracy rates (Santos et al., 2006). There are few studies about the migration of GT in sheep (Santos et al., 2005b; Santos et al., 2006) and goats (Oliveira et al., 2005). These studies indicated the existence of species-specific and individual differences in fetal sex determination.

In horses, Taveiros et al. (2003) observed that the development of fetuses derived from embryo transfer was delayed compared to those originated from natural mating during the

first 30 days of gestation. In the present study, GT migration occurred later in fetuses derived from the transfer of frozen embryos than in fetuses produced by natural mating in agreement with Santos et al. (2006) and Taveiros et al. (2003) who attributed this difference to embryo manipulation at transfer.

of whether the fetus derived from natural mating or embryo transfer, fetal sexing performed only based on the position of the GT requires considerable skill an experienced operator and good ultrasonography equipment. This recommendation is particularly important in the case of female fetuses because the GT migration from its initial to final position is shorter than in male fetuses. These differences in position are already difficult to visualize even if the fetus is outside the uterus a fetus less than 60 days this task becomes even more difficult by . , in some fetuses additional examinations been necessary in order to describe the GT migration and their posterior differentiation in external genital structures.

Although sexing of fetuses produced by natural mating is possible between 38th 48th days of gestation, it has been suggested that the ultrasonographic exam in sheep should be performed from the 50th day onwards (Santos et al., 2005a). However, this assumption is not always correct for fetuses derived from the transfer of frozen embryos since in some fetuses this migration can be delayed up to the 58th day of gestation. Therefore, we recommend the diagnosis on the 60th day of gestation. However, the GT of some fetuses may migrate after the 60th day of gestation due to species-specific and individual variations.

Another important factor determining fetal sexing accuracy in small ruminants is the frequency of examinations. Repeated examinations are commonly necessary for high accuracy rates, as suggested by Bürstel (2002) and Reichenbach et al. (2004). In the present study accuracy rates EI and EII Santos et al. (2005a,b/2006) and Oliveira et al. (2005) who demonstrated that serial exams at short time intervals do not lead to more accurate results. In addition, repeated exams at short time intervals are not feasible under field conditions.

It is not always possible to precisely quantify all fetuses by ultrasonography in sheep, especially in multiple pregnancies it is even less likely to identify the sex of all fetuses in the same exam. Reichenbach et al. (2004) stated that the need serial exams is a limiting factor for the application of the technique under field conditions.

According to White et al. (1984), Gearhart et al. (1988) and Haibel (1990) the accuracy of fetal sexing in twin pregnancy is lower than in single pregnancy. In this work, the few twin pregnancies observed did not allow an accurate comparison with single pregnancies. proposed exams the first between 50 and 56 and the second between 66 and 70 in case of multiple pregnancies. According to White et al. (1984), Gearhart et al. (1988), Haibel (1990), Oliveira et al. (2005) and Santos et al. (2005b, 2006) in multiple pregnancies fetal sexing should only be performed by animals carrying twins. In the present study two twin pregnancies gave birth to single living lambs. In a previous experiment, Santos et al. (2006) observed by ultrasonography, a partial mummification process in multiple pregnancies in ewes.

The results obtained in the present study, which are similar to that reported by Andrade et al. (2004), suggest that transrectal ultrasonography is a reliable technique for fetal sexing during the first 65 days of gestation in sheep. This disagrees with Bürstel et al. (2002) who did not recommend the use of transrectal ultrasonography for gender determination in multiple pregnancies in goats. The accuracy of fetal sexing under field conditions is high in multiple pregnan when ultrasound imaging is properly timed within a period of pregnancy and accurately performed with proper equipment and by experienced operators. The better results obtained in the present study compared to those reported by Coughbrough & Castell (1998) and Bürstel (2002) might be attributed to the use of a double-frequency linear transducer.

The findings of the present study allow one to conclude that fetal sexing in Dorper breed can be done from the 60th onward in fetuses derived from frozen embryos and from the

50th day onward in fetuses produced by natural mating. ultrasonographic exams repeated in short-time intervals do not maximize the accuracy of fetal sexing. In addition, real-time ultrasonography is a reliable tool for fetal sex determination in sheep after day 50 of gestation taking into account both the location of the GT and the identification of external genital structures.

5. References

Andrade, J.C.O, Guido, S.I., Sousa, B.P.A., 2004. Sexagem fetal em ovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, 32, 185.

Andrade, J.C.O, Sousa, B.P.A., Guido, S.I., 2005. Eficiência do descongelamento de embriões ovinos da raça dorper. *Acta Scientiae Veterinariae*, 33, 433.

Bandeira, D.A., Santos, M.H.B., Correia Neto, J., Nunes, J.F., 2004. Aspectos da caprino-ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivo e reprodutivo. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.), *Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha*. Varela, São Paulo, pp.1-9.

Bürstel, D., 2002. Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie. Hannover: Thesis (Doctor in Veterinary Medicine), College of Veterinary Medicine of Hannover.

Bürstel, D., Meinecke-Tillmann, S., Meinecke, B., 2001. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. In: 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Vienna, Austria. Vienna: ESDAR Newsletter, pp.53-54.

- Bürstel, D.M., Meinecke-Tillmann, S., Meinecke, B., 2002. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. *Vet. Record*, 151, 635-636.
- Catt, S.L., Catt, J.W., Gomez., M.C., Maxwell, W.M.C., Evans, G., 1996. Birth of a male lamb derived from an in vitro matured oocyte fertilised by intracytoplasmic injection of a single presumptive male sperm. *Vet. Record*, 139, 494-495.
- Coughbrough, C.A.; Castell, M.C., 1998. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. *Theriogenology*, 50, 263 - 267.
- Curran, S., 1992. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. *Theriogenology* 37, 17-21.
- Freitas, V.J.F., Simplício, A.A., 2002. Transferência de embriões em caprinos. In: Gonçalves, P.B.D., Figueiredo, J.R., Freitas, V.J.F. (Eds.) *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. Varela São Paulo, pp.179-194.
- Garner, D.L., 2001. Sex-sorting mammalian sperm: concept to application in animals. *J. Andrology* 22, 519-526, 2001.
- Gearhart, M.A., Wingfield, W.E.; Knight, J.A.; Smith, J.A.; Dargatz, D.A.; Boon, J.A.; Stokes, C.A., 1988. Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. *Theriogenology*, 30, 323-337.

- Gutierrez-Adan, A., Cushwa, W.T., Anderson, G.B., Medrano, J.F., 1997. Ovine-specific Y-chromosome RAPD-SCAR marker for embryo sexing. *Anim. Gen.* 28, 135-138.
- Haibel, G.K., 1990. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 3, 597-613.
- Johnson, L.A., 2000. Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the-art. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 93-107.
- Merkt, H., Moura, J.C.A., 2000. Geschlechtsbestimmung von Pferdefeten zwischen dem 50. und 93. Tag der Trächtigkeit mittels Sonographie. *Tierärztl Prax.* 28, 166-171.
- Nan, D., Van Oord, H.A., Taverne, M.A.M., 2001. Determination of foetal gender in sheep by transabdominal ultrasonographic scanning. In: 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Vienna, ESDAR Newsletter, pp.70.
- Oliveira, M.A.L., Reichenbach, H-D., Santos, M.H.B., Tenório Filho, F. 2004. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.) *Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha*. Varela, São Paulo, pp.85-96.
- Oliveira, M.A.L., Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Moura, R.T.D., Chiamenti, A., Rabelo,

M.C., Bezerra, F.Q.G., Lima, P.F., 2005. Early identification of fetal sex and determination of the genital tubercle migration's day in dairy goats using ultrasound. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 459.

Reichenbach, H-D., Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Meinecke-Tillmann, S., Bürstel, D-M., 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.) *Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha*. Varela, São Paulo, pp.117-136.

Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Guido, S.I., Bezerra, F.Q.G.B., Melo, A.N., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L., 2006. Fetal sexing in Santa Inês ewes by ultrasonography. *Ciência Rural*, 36, 573-578.

Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Moura, R.T.D., Lima, P.F., Reichenbach, H-D., Oliveira, M.A.L., 2005a. Early identification of the fetal sex in small ruminants by ultrasonography. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 131-134.

Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Rabelo, M.C., Melo, A.N., Lima, P.F. Oliveira, M.A.L., 2005b. Fetal sexing by ultrasonography in ewe of Santa Inês breed. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 247.

Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F., Moraes, E.P.B.X., Chalhoub, M., Bicudo, S.D., 2004. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.) *Diagnóstico de gestação na cabra e na*

ovelha. Varela, São Paulo, pp.97-116.

Stroud, B.K., 1996. Using ultrasonography to determine bovine fetal sex. *Veterinary Medicine* 91, 663-672.

Taveiros, A.W., Oliveira, M.A.L., Tenório Filho, F., Lima, P.F., Santos, M.H.B., 2003. Ultrasonographic monitoring of 103 recipient mares of different reproductive status during the first 30 days after embryo transfer. *Vet. Record*, 153, 558-560.

White, I.R., Russel, A.J.F., Fowler, D.J., 1984. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and determination of fetal numbers in sheep. *Vet. Record*, 115, 140-143.

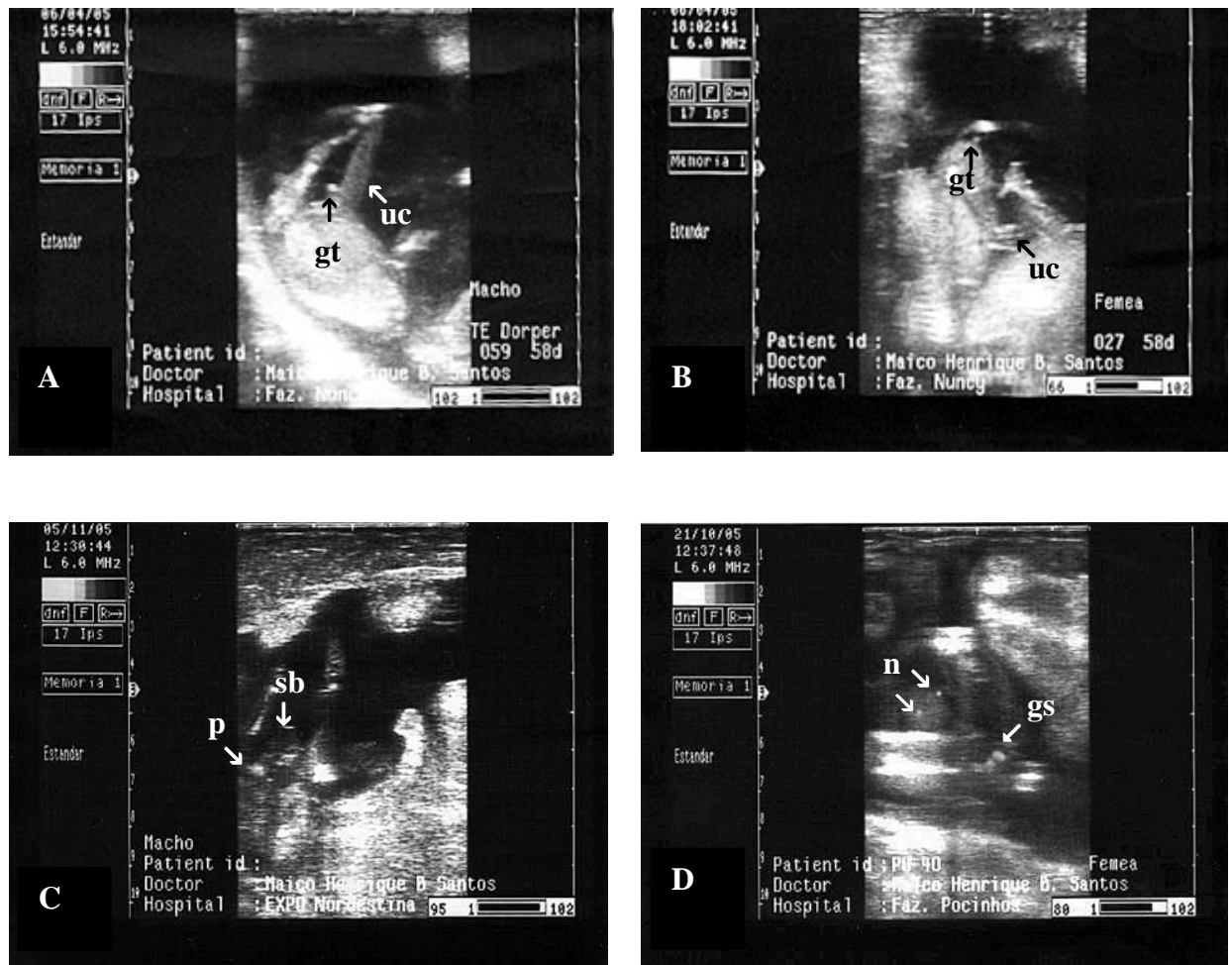


Figure 1 – Location of the genital tubercle (gt ↑) and umbilical cord (uc ↷) in a male fetus (A) and a female fetus (B). Male fetus (C) showing the scrotal bag (sb ↓) and prepuce (p ↑). Female fetus (D) showing genital swelling (gs ↓) and nipples (n ↘↘).

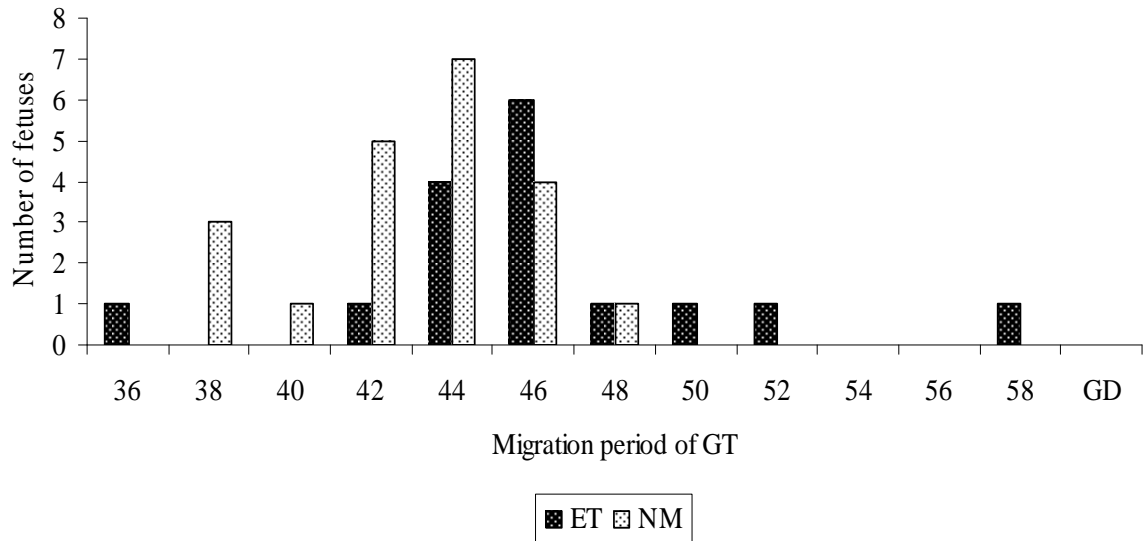


Figure 2 – Gestational day (GD) in which GT migration occurred for Dorper breed fetuses derived from embryo transfer (ET) and controlled natural mating (NM).

Table 1 – Gender determination of Dorper sheep by ultrasonographic monitoring from the 30th to 60th days of gestation at 48-h intervals (EI and EII) and after a single exam (EIII).

Experiment	Sexed fetuses n	Non-sexed fetuses n	Born fetuses n	Accuracy of Diagnosis n (%)
EI	21	2	23	21/23 (91.3)
EII	16	2	18	16/18 (88.9)
EIII	10	-	10	10/10 (100.0)
Total	47	4	51	47/51(93.4)

Utilização da ultra-sonografia na sexagem de fetos da raça Anglo-nubiana pela identificação do tubérculo genital e da genitália externa

Maico Henrique Barbosa dos Santos¹, Aduino Chiamenti¹, Cristiano Rocha de Aguiar Filho¹
Érica Paes Barreto Xavier de Moraes¹, Cícero Cerqueira Cavalcanti Neto²,
Paulo Fernandes de Lima^{1,3}, Marcos Antonio Lemos de Oliveira^{1,3(*)}

Resumo

Neste trabalho, dividido em dois experimentos (EI e EII), objetivou-se estabelecer o período ideal de sexagem fetal em caprinos da raça Anglo-nubiana pela ultra-sonografia transretal. O EI foi desenvolvido com a finalidade de estabelecer o período de migração do TG nos primeiros 60 dias de gestação através de exames seriados e o EII com o intuito de avaliar a acurácia da sexagem fetal, através de exame único, realizada nos primeiros 80 dias de gestação. Os exames foram realizados por via transretal com transdutor linear de dupla frequência (6,0 e 8,0 MHz). No EI, os fetos (n = 29) foram monitorados em intervalos de 24 horas, do 40º ao 60º dia de gestação e no EII, os fetos (n = 104), entre o 50º e o 80º dia de gestação foram examinados somente uma vez. A acurácia da sexagem fetal no EI foi de 100% (2/2) nas gestações simples, 100% (18/18) nas duplas e 66,6% (6/9) nas tríplexes, registrando-se que a acurácia das gestações tríplexes foi inferior ($P < 0,05$) as demais. No EII, a acurácia foi de 100% (37/37) nas gestações simples, 82,5% (33/40) nas duplas e de 63,0% (17/27) nas tríplexes, constatando-se que a acurácia das gestações simples foi maior ($P < 0,05$) do que nas outras. A acurácia total foi de 89,7% (26/29) no EI e de 83,7% (87/104) no EII, não havendo diferença ($P > 0,05$) entre ambos. A migração do TG ocorreu entre o 44º e o 49º dia de gestação, perfazendo uma média de $46,2 \pm 1,3$ dias. Os resultados permitem concluir que a ultra-sonografia em tempo real é um método eficiente para sexar fetos caprinos nos primeiros 80 dias da gestação, tanto pela localização do TG quanto pela identificação das estruturas da genitália externa. É também possível concluir que exames repetidos em curtos intervalos não devem ser implementados na rotina de trabalho porque não conferem maior acurácia ao exame ultra-sonográfico.

Palavras chave: pênis, prepúcio, bolsa escrotal, tetas, vulva e clitóris

Use of ultrasound for sexing fetus of Anglo-nubiana breed by identification of the genital tubercule and external genitalia

Abstract

In this work, divided in two experiments (EI e EII), the objective was to determine the ideal period for fetal sexing in goats of Anglo-nubiana breed by transrectal ultrasonography. The EI was carried out with the purpose of establishing the period of GT migration in the first 60 days of pregnancy by serial exams, and EII aiming to evaluate the accuracy of fetal sexing, with a single exam, in the first 80 days of pregnancy. The exams were conducted by transrectal via with a linear transducer of double frequency (6.0 e 8.0 MHz). In EI, the fetuses (n = 29) were monitored in 24h intervals, from day 40 to 60 of pregnancy and in EII the fetuses (n = 104) between days 50 and 80 of pregnancy were examined only once. The fetal sexing accuracy in EI was 100% (2/2) in single, 100% (18/18) in twin and 66.6% (6/9) in triple pregnancies, pointing out that the accuracy of triple pregnancy was inferior ($P < 0,05$) to the others. In EII, the accuracy was 100% (37/37) in single, 82.5% (33/40) in twin and 63.0% (17/27) in triple pregnancies, verifying that the accuracy of the single pregnancies were higher ($P < 0.05$) than the others. The total accuracy was 89.7% (26/29) in EI and 83.7% (87/104) in EII, with no difference ($P > 0.05$) between both. The GT migration took place between days 44 and 49 of pregnancy, making up an average of 46.2 ± 1.3 days. The results allow to conclude that ultrasonography in real time is an efficient method for sexing goat fetuses in the first 80 days of pregnancy, whether by the position of the GT or by the identification of structures of the external genitalia. It is also possible to conclude that repeated exams in short intervals should not be implemented in routine work, because they do not confer a greater accuracy to the ultrasonographic exam.

Key words: penis, prepuce, scrotal bag, teats, vulva and clitoris

Utilización de la ultrasonografía en sexaje de fetos de la raza Anglo-nubiana, por la identificación del tubérculo genital e de la genitália externa

Resumen

En este trabajo, dividido en dos experimentos (EI y EII), el objetivo fue establecer el período ideal de sexaje fetal en caprinos de la raza Anglo-nubiana por ultra-sonografía transrectal. El EI fue desarrollado con la finalidad de establecer el período de migración del TG en los primeros 60 días de gestación mediante exámenes en series y el EII con el propósito de estimar la precisión del sexaje fetal, por examen único, realizado en los primeros 80 días de gestación. Los exámenes fueron realizados por vía transrectal con transductor lineal de doble frecuencia (6,0 y 8,0 MHz). Para el EI, los fetos ($n = 29$) fueron observados en intervalos de 24 horas, del 40° al 60° día de gestación y en el EII, los fetos ($n = 104$) entre el 50° y 80° día de gestación fueron examinados solamente una vez. La precisión del sexaje fetal en el EI fue de 100% (2/2) en las gestaciones simples, 100% (18/18) en las dobles y 66,6% (6/9) en las triples, registrando que la precisión de las gestaciones simples fue inferior ($P < 0,05$) a las otras. En el EII, la precisión fue de 100% (37/37) en las gestaciones simples, 82,5% (33/40) en las dobles y de 63,0% (17/27) en las triples, percibiéndose que la precisión de las gestaciones simples fue más grande ($P < 0,05$) que en las otras. La precisión total fue de 89,7% (26/29) para el EI y de 83,7% (87/104) para el EII, sin diferencia entre ambos ($P > 0,05$). La migración del TG ocurrió entre el 44° y el 49° día de gestación, con un promedio de $46,2 \pm 1,3$ días. Los resultados permiten concluir que la ultrasonografía en tiempo real es un método eficiente para sexar fetos caprinos en los primeros 80 días da gestación, sea por la localización del TG o por la identificación de las estructuras de los genitales externos. Es posible concluir también que exámenes repetidos en cortos intervalos no deben ser implantados como parte de la rutina de trabajo pues no permiten mayor precisión en el examen ultrasonográfico.

Palabras claves: pene, prepúcio, bolsa escrotal, tetas, vulva e clítoris.

Introdução

A caprinocultura na Região Nordeste do Brasil, que num passado recente era uma atividade voltada apenas para a subsistência de grande parte da população, vem sofrendo profunda modificação no modelo de produção. A adoção de biotécnicas que aceleram o melhoramento genético dos rebanhos tem contribuído para a tecnificação das propriedades, todavia, o retorno do capital investido necessita ocorrer, pelo menos em médio prazo, para que esse agronegócio continue atraente na captação de novos investimentos (Bandeira et al., 2004).

Agregar valor aos produtos comercializados é uma estratégia interessante que deve ser estimulada, perseguida e adotada pelos produtores rurais tendo em vista que os animais de alta qualificação genética que resultam dos programas de inseminação artificial e de transferência de embriões são de custo elevado e necessitam de rápida comercialização para assegurar a rotatividade financeira (Bandeira et al., 2004).

A adoção da ultra-sonografia na rotina do monitoramento reprodutivo dos pequenos ruminantes é uma realidade que precisa ser incorporada às atividades das propriedades tecnificadas em função do potencial do comércio de animais devidamente sexados (Reichenbach et al., 2004). Nesses animais, ao contrário do que ocorre com as grandes espécies, a sexagem fetal ainda é de uso restrito porque a acurácia de diagnóstico é limitada nos casos de gestação múltipla (Bürstel, 2002), mesmo depois da realização de exames seriados (Santos et al., 2005ab; Oliveira et al., 2005).

A repetição de exames ultra-sonográficos é um fator que limita a difusão dessa tecnologia em razão das constantes visitas elevarem os custos da prestação desse serviço profissional (Santos et al., 2006) sem a devida segurança de que no próximo exame, o feto estará adequadamente posicionado para permitir a sexagem (Reichenbach et al., 2004).

A estrutura anatômica que precede o aparecimento do pênis, prepúcio, bolsa escrotal, vulva, tetas e clitóris é o tubérculo genital (TG) e a determinação de seu posicionamento, próximo à cauda ou imediatamente após o cordão umbilical, é o método mais precoce de definir o sexo fetal pela ultra-sonografia (Reichenbach et al., 2004).

Dentre os poucos trabalhos disponíveis na literatura sobre sexagem fetal nos pequenos ruminantes, ficou evidente existir diferença tanto no período de migração do TG entre espécies quanto entre indivíduos de uma mesma e de diferentes raças (Oliveira et al., 2005; Santos et al., 2005ab), além de ter sido evidenciado que nem sempre a repetição de exames ultra-sonográficos aumenta a acurácia do diagnóstico (Santos et al., 2006).

Diante do abordado, neste trabalho objetivou-se definir o período ideal de sexagem de fetos da raça Anglo-Nubiana pela ultra-sonografia transretal. O primeiro experimento (EI) foi desenvolvido com a finalidade de estabelecer o período de migração do TG nos primeiros 60 dias de gestação através de exames seriados e o segundo (EII) com o intuito de avaliar a acurácia da sexagem fetal, através de exame único, realizada nos primeiros 80 dias de gestação.

Material e Métodos

Neste trabalho foram avaliados 133 fetos de 80 cabras da raça Anglo-nubiana criadas no Município de Sertânia, Estado de Pernambuco. O município está localizado na zona fisiográfica do Sertão, Microregião do Moxotó, sendo caracterizada por condições edafoclimáticas do ecossistema de caatinga, com clima semi-árido quente, temperatura anual média de 25 °C e precipitação pluvial anual média de 431, 0 mm³.

Os animais, submetidos ao manejo semi-intensivo, quando em piquetes tinham a pastagem nativa da caatinga, tipo arbustivo-arbórea, como suporte alimentar no período chuvoso e na época seca permaneciam em piquetes formados por capim buffel (*Cenchrus*

ciliares L.) e feno de espécies nativas, como a maniçoba (*Manihot glaziovii* Muell. Arg.), orelha de onça (*Cattleya Forbessi* Lind.), mela bode (*Abutilon tiubae* k. Sch.) e mata pasto (*Cassia tora* L.). Além disso, a água e o sal mineral eram diariamente ofertados *ad libitum*.

Para execução dos exames, conduzidos sempre pelo mesmo operador, foi utilizado um aparelho ultra-sonográfico (modelo 240 Parus – Pie Medical) equipado com um transdutor linear (6,0 e 8,0 MHz) adaptado a um suporte de PVC para facilitar a manipulação no reto do animal, como sugerido por Oliveira et al. (2004). Uma impressora (Seikosha VP/1200 – Sony) também fazia parte do equipamento ultra-sonográfico.

Foram conduzidos dois experimentos (EI e EII) visando estabelecer o período ideal de sexagem em caprinos da raça Anglo-nubiana pela ultra-sonografia transretal.

No EI, os 29 fetos das 14 fêmeas foram monitorados em intervalos de 24 horas, do 40º ao 60º dia de gestação. Foi considerado feto macho aquele que apresentava o TG em posição imediatamente caudal ao cordão umbilical e fêmea, o que evidenciava o TG posicionado abaixo da cauda (Figura 1).

No EII, os 104 fetos das 66 fêmeas com gestação entre o 50º e o 80º dia foram examinados somente uma vez. O sexo foi identificado tomando-se por base, a presença do TG, como descrito no EI, ou de uma ou mais estruturas da genitália externa, como bolsa escrotal, pênis e prepúcio no feto macho e tetas, vulva e clitóris na fêmea (Figura 1).

A acurácia do diagnóstico entre os diferentes tipos de gestação foi realizada pelo teste de Qui-quadrado, considerando-se o nível de significância da ordem de 5%.

Resultados

No EI foram registradas 2 gestações simples e 12 múltiplas, sendo 9 duplas e 3 tríplexes, não sendo verificada diferença ($P > 0,05$) entre as acurácias da constatação do sexo para as gestações simples e dupla, contudo, foram superiores ($P < 0,05$) àquela obtida nas gestações tríplexes (Tabela 1).

O período de migração do TG variou de 44 a 49 dias (Figura 2), perfazendo uma média de $46,2 \pm 1,3$ dias.

No EII ocorreram 37 gestações simples e 29 múltiplas, sendo 20 duplas e 9 tríplices, registrando-se que a acurácia da sexagem fetal para as gestações simples foi superior ($P < 0,05$) aquelas das gestações duplas e tríplices. Não foi constatada diferença ($P > 0,05$) entre as acurácias da sexagem nas gestações duplas e tríplices (Tabela 2).

Discussão

Um dos grandes desafios da sexagem fetal nos pequenos ruminantes é estabelecer precocemente o momento ideal de visualizar o TG definitivamente posicionado para maximizar a acurácia dessa técnica pela ultra-sonografia (Santos et al., 2006). Os poucos trabalhos conduzidos para definir o período de migração do TG em ovinos (Santos et al., 2005b, Santos et al., 2006) e caprinos (Oliveira et al., 2005) indicam existir diferença não somente entre espécies, mas entre indivíduos de uma mesma raça, de uma mesma gestação e até mesmo, segundo Santos et al. (2005a), entre fetos provenientes de monta natural e de transferência de embriões congelados.

Neste trabalho foi registrado que o período médio de migração do TG foi semelhante aos constatados por Oliveira et al. (2005) e Santos et al. (2005a) em caprinos. Todavia, é interessante ressaltar que estes autores recomendaram sexar fetos da espécie caprina após o 55º dia de gestação em decorrência da migração do TG ocorrer num período muito amplo, diferente do que foi aqui observado, onde a migração ocorreu num curto intervalo. Esta ocorrência permite sugerir que a sexagem de fetos da raça Anglo-nubiana pode ser efetuada já a partir do 50º dia de gestação. Contudo, é oportuno comentar que nada impede do TG de algum feto migrar, mesmo que remotamente, após o 50º dia em consequência de possíveis

variações inerentes ao indivíduo de uma mesma e de diferentes raças, conforme foi anteriormente abordado.

É importante ressaltar que a sexagem fetal, com base unicamente no posicionamento do TG, requer habilidade e experiência do operador, além de equipamento ultra-sonográfico de qualidade. Essa recomendação é particularmente interessante quando se trata de feto fêmea, pois a distância a ser percorrida pelo TG, do seu posicionamento inicial até o final, é bem menor do que no feto macho. Se essa diferença de posicionamento já é difícil de ser visualizada fora do ambiente uterino, num feto antes dos 60 dias de vida, torna-se uma tarefa mais difícil ainda de ser corretamente concretizada utilizando apenas imagens do monitor do equipamento de ultra-som. Por essa razão, alguns fetos precocemente diagnosticados como fêmeas podem nascer machos ou serem corretamente sexados após um exame mais tardio que permita visualizar o TG definitivamente posicionado ou após sua diferenciação nas demais estruturas da genitália externa.

Outro importante desafio da sexagem fetal é com relação à acurácia do exame ultra-sonográfico porque, nos pequenos ruminantes, está geralmente relacionada com uma maior quantidade de variáveis que dificultam o exame quando comparado com as espécies eqüina e bovina. Por isso é comum existir a necessidade da realização de exames ultra-sonográficos seriados para diagnosticar o sexo do feto com precisão, como sugerido por Bürstel (2002) e Reichenbach et al. (2004). Porém, tanto neste trabalho, ao se comparar as acurácias dos diagnósticos emitidos no EI e EII, quanto nos de Santos et al. (2005ab/2006) e Oliveira et al. (2005) foi demonstrado que exames repetidos em pequenos intervalos, nem sempre proporcionam resultados mais expressivos. Além disso, é preciso considerar que exames realizados em curtos intervalos são inviáveis nas condições de campo. Os deslocamentos e a distância percorrida com as freqüentes visitas técnicas oneram o custo/benefício dos exames, inviabilizando uma atividade que, se bem administrada, é de grande importância para a

produção animal em decorrência de maximizar práticas de manejo e de planejamento comercial da propriedade, conforme reportaram Haibel (1990) e Reichenbach et al. (2004).

Além do abordado e na dependência do período e do tipo de gestação, nem sempre é possível quantificar todos os fetos de forma precisa, como por exemplo, nas gestações múltiplas e, muito menos, identificar o sexo de todos num mesmo exame. Abordagem semelhante foi anteriormente descrita por Reichenbach et al. (2004), ao explicitarem que além da necessidade de equipamentos mais sofisticados e de pessoal qualificado, um outro fator que limita a identificação do sexo fetal em condições de campo é a necessidade de exames seriados, principalmente nos casos de gestações múltiplas.

A expectativa inicial de ser registrada diferença entre a acurácia da sexagem nas gestações simples e múltiplas, particularmente nas gestações tríplices foi confirmada em ambos os experimentos. Entretanto, nem sempre a acurácia das gestações simples foi maior do que aquelas das gestações duplas e destas em relação as tríplices. Apesar do exposto, as maiores dificuldades na sexagem ocorreram nas gestações com mais de um feto, achados que reforçam as considerações de White et al. (1984), Gearhart et al. (1988) e Haibel (1990), bem como o relato de Bürstel et al. (2001) ao propor, nos casos de gestações múltiplas, a realização de exames em dois períodos consecutivos, sendo o primeiro efetuado entre o 50° e o 56° dia e o segundo entre o 66° e o 70° dia. Estes últimos autores advertiram ainda que exames para sexagem fetal devam ser implementados somente nos casos de gestação múltipla com até três fetos, em função dos diagnósticos resultantes desses exames serem vulneráveis a freqüentes equívocos, opinião compartilhada com White et al. (1984), Gearhart et al. (1988), Haibel (1990), Oliveira et al. (2005) e Santos et al. (2005b/2006).

As acurácias obtidas neste trabalho, 89,7% no EI e 83,7% no EII, além de similares àquelas relatadas por Oliveira et (2005) e Santos et al. (2005b), permitem o comentário de que a via transretal é eficiente para a sexagem de fetos nos primeiros 80 dias de gestação, sendo

ainda possível enfatizar que esse resultado contraria o de Bürstel et al. (2002), que relataram não ser recomendado utilizar essa via de exame nas gestações múltiplas. A experiência do operador e a qualidade do equipamento ultra-sonográfico disponível, como já anteriormente ressaltadas, são fundamentais para o êxito do diagnóstico do sexo fetal em qualquer período de gestação. No caso específico deste trabalho, ao se utilizar um transdutor linear com dupla frequência, é permissível admitir que o equipamento deva ter contribuído para os resultados terem sido mais expressivos do que os obtidos por Coughbrough e Castell (1998) e Bürstel (2002).

Conclusões

A ultra-sonografia em tempo real é eficiente para sexar fetos caprinos nos primeiros 80 dias da gestação, tanto pela localização do TG quanto pela identificação das estruturas da genitália externa.

Exames repetidos em curtos intervalos não devem ser implementados na rotina de trabalho porque não conferem maior acurácia ao exame ultra-sonográfico.

Referências

BANDEIRA, D.A., SANTOS, M.H.B., CORREIA NETO, J., NUNES, J.F. Aspectos da caprino-ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivo e reprodutivo. In: SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap. 1, p.1-9.

BÜRSTEL, D. **Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie.** 2002. 142f. Tese (Doutorado). Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover.

BÜRSTEL, D., MEINECKE-TILLMANN, S., MEINECKE, B. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. In: ANNUAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR DOMESTIC ANIMAL REPRODUCTION. 5, 2001, Vienna. **Proceedings ...** Vienna: ESDAR Newsletter, 2001. v.6, p.53 - 54.

BÜRSTEL, D., MEINECKE-TILLMANN, S., MEINECKE, B. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. **Vet. Record**, v.151, n.21, p.635-636, 2002.

COUGHBROUGH, C.A.; CASTELL, M.C. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. **Theriogenology**, v.50, p.263 - 267, 1998.

FREITAS, V.J.F., SIMPLÍCIO, A.A. Transferência de embriões em caprinos. In: GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal.** São Paulo: Varela, 2002. Cap. 9, p.179-194.

GEARHART, M.A., WINGFIELD, W.E.; KNIGHT, J.A.; SMITH, J.A.; DARGATZ, D.A.; BOON, J.A.; STOKES, C.A. Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. **Theriogenology**, v.30, 323-337, 1988.

HAIBEL, G.K. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. **Vet. Clin. North Am.: Food Anim Pract**, v.3, p.597-613, 1990.

OLIVEIRA, M.A.L., REICHENBACH, H-D., SANTOS, M.H.B., TENÓRIO FILHO, F. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.13. p.85-96.

OLIVEIRA, M.A.L., SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., MOURA, R.T.D., CHIAMENTI, A., RABELO, M.C., BEZERRA, F.Q.G., LIMA, P.F. Early identification of fetal sex and determination of the genital tubercle migration's day in dairy goats using ultrasound. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.459, 2005.

REICHENBACH, H-D., SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., MEINECKE-TILLMANN, S., BÜRSTEL, D-M., 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultrasonografia. In: SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.15. p.117-136.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., GUIDO, S.I., BEZERRA, F.Q.G.B., MELO, A.N., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L. Fetal sexing in Santa Inês ewes by ultrasonography. **Ciência Rural**, v.36, n.2., p.573-578, 2006.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., MOURA, R.T.D., LIMA, P.F., REICHENBACH, H-D., OLIVEIRA, M.A.L. Early identification of the fetal sex in small ruminants by ultrasonography. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.131-134, 2005a.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., RABELO, M.C., MELO, A.N., LIMA, P.F. OLIVEIRA, M.A.L. Fetal sexing by ultrasonography in ewe of Santa Inês breed. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.247 2005b.

WHITE, I.R. et al. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and determination of fetal numbers in sheep. **Vet. Record**, v.115, p.140-143, 1984.

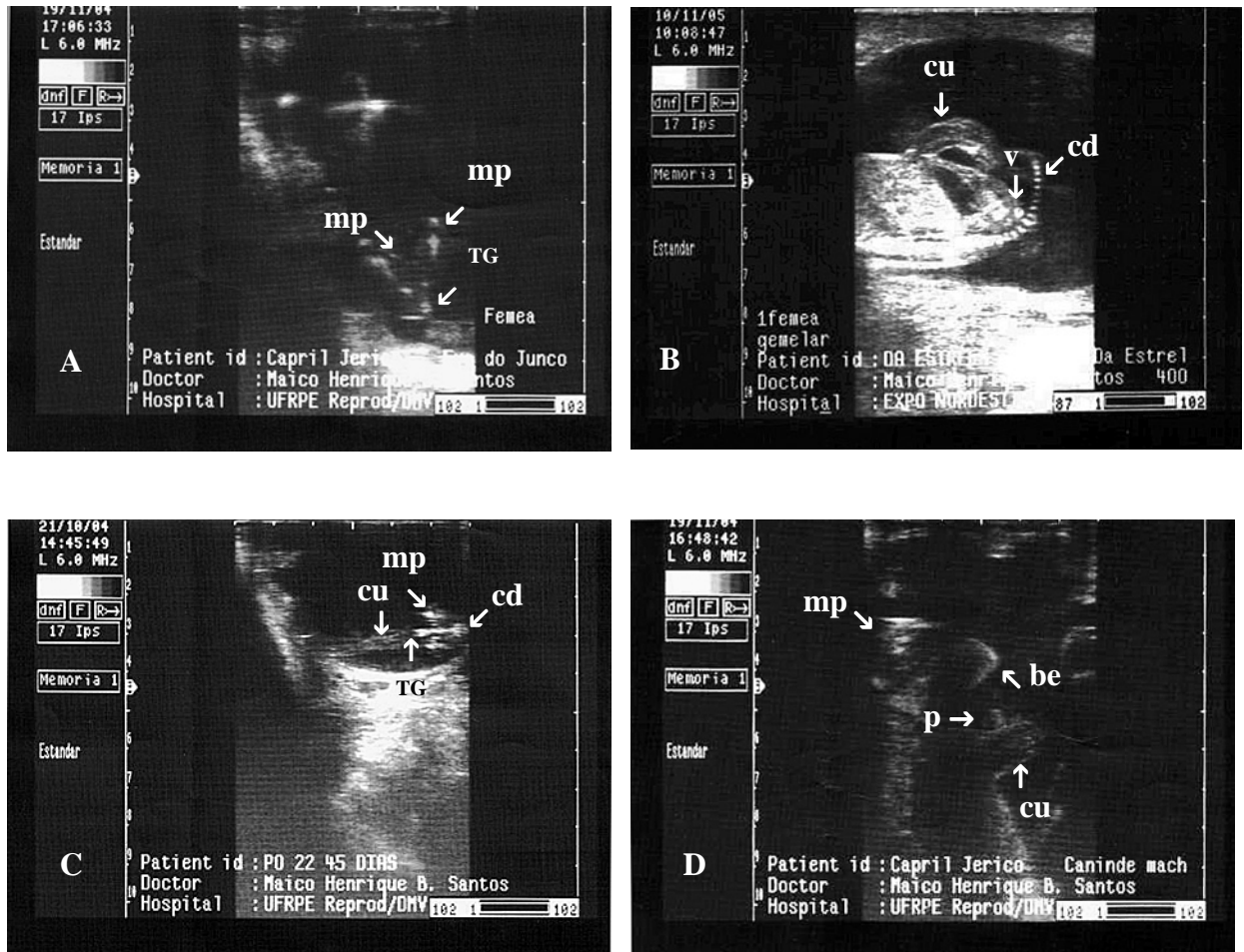


Figura 1 – Imagens de fetos do sexo feminino (A e B), evidenciando tubérculo genital (TG), cordão umbilical (cu), membros posteriores (mp), cauda (cd) e vulva (v). Imagens de fetos do sexo masculino (C e D), mostrando o tubérculo genital (TG) próximo ao cordão umbilical (cu), bolsa escrotal e prepúcio.

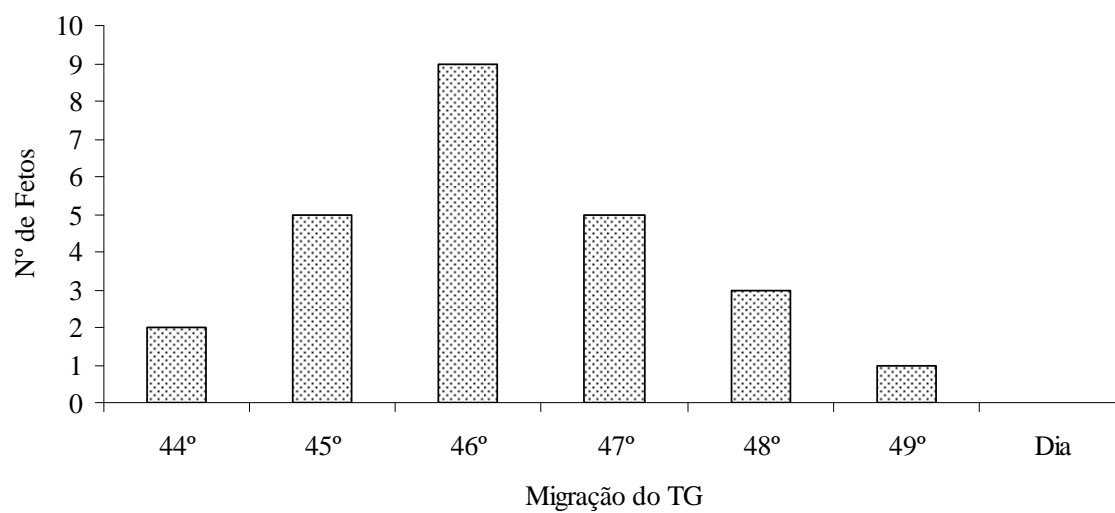


Figura 2 – Monitoramento diário da sexagem fetal (n = 25) entre o 40° e o 60° dia de gestação, levando em consideração o posicionamento do TG.

Tabela 1 - Sexagem fetal de caprinos da raça Anglo-nubiana após monitoramento ultrasonográfico, do 40° ao 60° dia de gestação, em intervalos de 24 horas.

Tipo de Gestação	Feto Corretamente Sexado n	Feto não Sexado n	Feto Nascido n	Acurácia n (%)
Simple	2	-	2	2/2 (100) ^a
Dupla	18	-	18	18/18 (100) ^a
Tríplice	6	3	9	6/9(66,6) ^b
Total	26	3	29	26/29 (89,7)

^{ab} Letras diferentes na mesma coluna indica diferença (P < 0,05)

Tabela 2 - Sexagem fetal de caprinos da raça Anglo-nubiana após exame ultra-sonográfico único de fêmeas entre o 50° e o 80° dia de gestação.

Tipo de Gestação	Feto Corretamente Sexado N	Feto não Sexado n	Feto Nascido n	Acurácia n (%)
Simple	37	-	37	37/37 (100) ^a
Dupla	33	7	40	33/40 (82,5) ^b
Tríplice	17	10	27	17/27(63,0) ^b
Total	87	17	104	87/104 (83,7)

^{ab} Letras diferentes na mesma coluna indica diferença (P < 0,05)

Early sexing of fetus of Boer goat by transrectal ultrasonography

Maico Henrique Barbosa dos Santos¹, Aduino Chiamenti¹, Adriana Trindade Soares²,
Érica Paes Barreto Xavier de Moraes¹, Bárbara Loureiro¹, Horst-Dieter Reichenbach³, Paulo
Fernandes de Lima^{1,4}, Marcos Antonio Lemos de Oliveira^{1,4}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária/Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), ²Empresa Estadual de Pesquisa e Agropecuária da Paraíba S/A, Rua Eurípedes Tavares, nº 210, 58013 290 João Pessoa-PB, ³Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft/LfL, Prof.-Dürwächter-Platz 1, 85586 Poing-OT/Grub, Germany, ³Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n 52171 900 Recife-PE, Brazil
(maloufrpe@uol.com.br; malo@ufrpe.br)

Abstract

This work, divided in two experiments (EI and EII), aimed to establish the ideal period for fetus sexing in goats of Boer breed by transrectal ultrasonography. EI had the goal to establish the migration period of GT (genital tubercle) in the first 60 days of gestation through serial examinations and EII had the goal to establish the accuracy of fetus sexing through a single examination in the same period as EI. The exams were done through the transrectal via with a linear transducer of double frequency bands (6.0 and 8.0 MHz). In the EI, 61 fetuses of 31 females were monitored in 24-hour intervals, between the 40th and the 60th gestational day and in the EII, 47 fetuses of 32 females were examined only once between the 45th and the 60th gestational day. The fetal sexing accuracy in EI was 100% (8/8) for single-kid gestations, 96.9% (31/32) for twin-kid gestations and 100% (21/21) for triplet-kid gestations. In EII the accuracy was 94.4% (17/18) for single-kid gestations, 80.8% (21/26) for twin-kid gestations and 100% (3/3) for triplet-kid gestations. Either in the EI or in the EII it was not noticed difference in accuracy ($P > 0.05$) among the kinds of gestation, as well between the total accuracy of EI (98.3%) and of EII (87.2%). The GT migration occurred between the 43rd and 54th gestational day, resulting in an average of 47.4 ± 6.5 days. One concludes that even though ultrasonography is an efficient technique to sex goat fetuses during the 60 first days of gestation, either by GT localization or by the identification of external genital structures, the

repeated exams in daily short intervals did not propitiate higher accuracy in the diagnosis of fetal sex in goats of Boer breed by the transrectal ultrasonography method.

Keywords: genital tubercle genital, penis, prepuce, scrotum, teats, vulva e clitoris

Introduction

Goat raising in Brazil, specially in Northeastern region that has the higher concentration of this species in Brazil (IBGE, 2002), has been intensified in the last years with the introduction of exotic species through importation of animals, semen and embryo with high genetical value. This new path has modified the production model showing, transition from subsistence to a more demanding and technically advanced system, in which the adoption of bio-techniques intensify the genetic breeding of herds and assure the turnover of the invested capital (Bandeira et al., 2004).

Early gestational diagnosis and, particularly the fetal sexing through ultrasonography are resources that either monitors the reproductive activity of herds and aggregates value to the high-tech animal production, because it rationalizes management actions, qualify and value the trade of pregnant animals with the gender of fetuses properly determined (Reichenbach et al., 2004; Santos et al., 2004).

The early gender identification in small ruminants, mainly in goats, is a bio-technique little diffused throughout the world if compared to bovine (Curran, 1992; Stroud, 1996), equine (Merkt & Moura, 2000) and even to sheep (Coughbrough & Castell, 1998; Nan et al., 2001; Bürstel et al. 2001/2002; Bürstel, 2002, Andrade et al., 2004, Santos et al., 2005c; Santos et al., 2006). In Brazil is recent the attention some researches have given to it (Oliveira et al., 2005; Santos et al., 2005b).

Opposed to other species, multiple pregnancies in goats often diminish the accuracy of fetal sexing due to the difficulty in identifying securely all the fetuses in a single exam in a

certain moment of the gestation (Bürstel, 2002; Oliveira et al., 2005; Santos et al., 2005ab). Another feature that has to be properly considered in order to increase the accuracy in gender identification in goat fetuses is the determination of the GT migration period.

The identification of the migration period besides reducing wrong diagnoses, mainly male fetuses improperly classified as females, increases the trustworthiness and the diffusion of fetal sexing in this species, either for scientific goals or for commercial ones (Santos et al., 2005a).

In this study one aimed to define the ideal period to procedure the sexing Boer breed fetuses by transrectal ultrasonography. The first experiment (EI) determined the migration period of GT through serial exams while the second one (EII) evaluated the accuracy of fetal sexing through a single exam.

Material and Methods

Goat fetuses of Boer breed (n = 108) from 31 does submitted to controlled natural mating and 32 embryo receptors, transferred immediately after the collection.

For the exams to be executed, conducted by the same operator, an ultrasonographic device (model 240 Parus by Pie Medical) equipped with a linear transducer (6.0 and 8.0 MHz) adapted with a PVC support in order to ease the handling of the probe in the transrectal via, as suggested by Oliveira et al. (2004). For the exams to be recorded a printer (Seikosha VP/1200 – Sony) was used.

In the EI, the 61 fetuses were monitored in 24-hour intervals between the 40th and 60th gestational day. It was considered as male the fetus which presented the GT in immediately caudal position to the umbilical cord and female which had the GT sited below the tail (Figure 1).

In the EII, the 47 fetuses of the 32 does with gestation between the 45th and the 60th day were examined only once. The gender was identified having as basis the presence of GT, as described to EI or the presence of one or more external genital structure, such as scrotal bag, penis and prepuce in male fetus or nipples, genital swelling and clitoris in females (Figure 1).

The results were analyzed by the chi square test, considering 5% as the significance level.

Results

In EI, it was registered 8 single-kid gestations and 23 multiple, of the latter 16 were twin kids and 7 tripled kids. It was not found difference ($P > 0.05$) between the percentages of accuracy of the diverse kinds of gestation (Table 1).

The migration period of GT varied between the 43rd and 54th day (Figure 2), accounting an average of 47.4 ± 2.5 days of gestation. In most of the fetuses (43/61), GT reached the final position between the 45th and 48th gestational day. For some (13/61), the GT position was obtained after the 50th day.

In EII, it was registered 18 single-kids and 14 multiple gestations, of this 13 were twin kids and 1 tripled kids. It was not found difference ($P > 0.05$) between the percentages of accuracy of the diverse kinds of gestation (Table 2).

Out of the 47 fetuses in EII, 5 were sexed in the 45th day, 19 in the 51st day and 8 in the 60th day of gestation. The remaining 6, in which sexing was not possible, 5 were sexed in the 51st day of gestation and 1 in the 60th day.

DISCUSSION

The average migration period of GT, indicated in this work, is not different from those found by Oliveira et al. (2005) and Santos et al. (2005b) for other goat breeds. Even though GT migration occurs up to the 50th gestational day in most of fetuses (78.7%), it is prudent to highlight that migration occurs in a considerable portion of fetuses (21.3%) after this day. This supports the recommendation of Santos et al. (2005a), that states to procedure sexing for goats after the 55th gestational day due to the wide range of the migration period of GT.

Even considering this approach, it is important to emphasize that the GT of some fetus can migrate after the 55th gestational day. The few available works that identified migration period of GT in sheep (Santos et al., 2005b, Santos et al., 2006) and goats (Oliveira et al., 2005) indicate that migration differ not only among species but also among animals of the same or different species, among fetuses of the same gestation or even, according to Santos et al. (2005a), between fetuses from natural cover and from frozen embryo transference.

The fetal sexing, with basis on the GT position, demands a skillful and expert operator, besides the use of adequate ultrasonographic equipment which allows a quick and secure identification of GT. This recommendation is particularly important for female fetuses since the distance to be migrated by their GT, from the initial to final position, is shorter than for males. This difference in the GT position is difficult to be identified even in fetuses obtained in slaughterhouses and through the ultrasonography at the 60th gestational day the identification of GT is even more difficult. For this reason there are wrong diagnosis, which frequency can be diminished by a later exam that allow one to visualize the GT in its definite position or to identify external genital structures that result from the differentiation.

The biggest challenge of fetal sexing by ultrasound is the diagnosis accuracy, since in small ruminants the influence of features that can make the exam more difficult is higher than in equine and bovine species. So, ultrasonographic exams repeated in the same animal are required aiming to identify the fetus gender precisely, as suggested by Bürstel (2002) e Reichenbach et al. (2004). However, in this work, where the diagnosis accuracy in EI and EII was compared, as done by Santos et al. (2005ab/2006) and Oliveira et al. (2005), it was shown that repeated exams in short intervals not

always provide the best results. Furthermore, exams done in short intervals are less indicated in field conditions because they can increase the expenses for the cost/benefit ratio of this technique what threatens the viability of an activity that, if well managed, maximize not only the management practices and the commercial planning of the property as reported by Haibel (1990) and Reichenbach et al. (2004), but also the herd productivity.

Depending on the period and the kind of gestation, it is not always possible to quantify all fetuses, mainly in multiple pregnancies, being even worse to identify gender of all fetuses in a single exam. This observation agrees with Reichenbach et al. (2004) that, besides the use of more sophisticated equipment and skillful people, recommend serial exams mainly for multiple gestations.

The initial expectation of differences in diagnosis accuracy between single and multiple gestations, especially in tripled ones, was not confirmed in this work. The biggest difficulties in sexing occurred in the multiple gestations, which reinforces the considerations of White et al. (1984), Gearhart et al. (1988) and Haibel (1990), as well as those made by Bürstel et al. (2001) that in the case of multiple gestations proposed exams to be done in two consecutive periods, the first one between the 50th and 56th gestational day and the second between the 66th and 70th day. The latter authors recommend that exams for fetal sexing should be restrict to tripled-kid gestations, since the presence of a more fetuses propitiates more risk for mistakes in diagnoses. This opinion is shared with White et al. (1984), Gearhart et al. (1988), Haibel (1990), Oliveira et al. (2005) and Santos et al. (2005b/2006).

The diagnosis accuracy for sexing obtained in this work, mainly in the EII was similar to those found by Oliveira et (2005) and Santos et al. (2005b), giving support to former comments of these authors that the transrectal via is efficient for sexing of fetuses of Boer breed through ultrasonography in the first 60 days of gestation.

On the other hand, it disagrees with Bürstel et al. (2002) that do not recommend this via of examination for multiple gestations. The operator expertise and the quality of the ultrasonographic equipment are vital for the success of diagnosis in ever gestational period.

In this work the utilization of a linear transducer with double frequency band certainly contributed to obtaining more expressive results than those obtained by Coughbrough & Castell (1998) and Bürstel (2002).

The results allow one to conclude that ultrasonography in actual time is efficient to do fetal sexing of goats in the first 60 gestational days, either by localizing GT or by identifying external genital structures. Besides this, it is possible to conclude the repeated exams in short intervals do not propitiate more accuracy for diagnoses made by ultrasonographic fetal sexing in goats of Boer breed.

References

- ANDRADE, J.C.O, GUIDO, S.I., SOUSA, B.P.A., 2004. Sexagem fetal em ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.185.
- BANDEIRA, D.A., SANTOS, M.H.B., CORREIA NETO, J., NUNES, J.F., 2004. Aspectos da caprino-ovinocultura no Brasil e seus reflexos produtivo e reprodutivo. In: SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap. 1. p.1-9.
- BÜRSTEL, D. **Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie**. 2002. 142f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover.
- BÜRSTEL, D., MEINECKE-TILLMANN, S., MEINECKE, B., 2001. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. ANNUAL CONFERENCE OF THE EUROPEAN SOCIETY FOR DOMESTIC ANIMAL REPRODUCTION. 5, 2001, Vienna. **Proceeding ...** Vienna: ESDAR Newsletter, v.6, p.53 - 54.
- BÜRSTEL, D., MEINECKE-TILLMANN, S., MEINECKE, B., 2002. Ultrasonographic

diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. **Veterinary Record**, v.151, n.21, p.635-636.

COUGHBROUGH, C.A.; CASTELL, M.C. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. **Theriogenology**, v.50, p.263 - 267, 1998.

CURRAN, S., 1992. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. **Theriogenology** 37, 17-21.

GEARHART, M.A., WINGFIELD, W.E.; KNIGHT, J.A.; SMITH, J.A.; DARGATZ, D.A.; BOON, J.A; STOKES, C.A., 1988. Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. **Theriogenology**, v.30, 323-337.

HAIBEL, G.K. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.3, p.597-613, 1990.

MERKT, H., MOURA, J.C.A., 2000. Geschlechtsbestimmung von Pferdefeten zwischen dem 50. und 93. Tag der Trächtigkeit mittels Sonographie. **Tierärztl Prax.** 28, 166-171.

OLIVEIRA, M.A.L., REICHENBACH, H-D., SANTOS, M.H.B., TENÓRIO FILHO, F. 2004. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.13. p.85-96.

OLIVEIRA, M.A.L., SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., MOURA, R.T.D., CHIAMENTI, A., RABELO, M.C., BEZERRA, F.Q.G., LIMA, P.F., 2005. Early identification of fetal sex and determination of the genital tubercle migration's day in dairy goats using ultrasound. **Acta Scientiae Veterinariae** 32, 459.

REICHENBACH, H-D., SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., MEINECKE-TILLMANN, S., BÜRSTEL, D-M., 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultrasonografia. In: SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap.15. p.117-136.

SANTOS, M.H.B., OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F., MORAES, E.P.B.X., CHALHOUB, M., BICUDO, S.D., 2004. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In: OLIVEIRA, M.A.L., LIMA, P.F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. Cap. 14. p.97-116.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., GUIDO, S.I., BEZERRA, F.Q.G.B., MELO, A.N., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L., 2006. Fetal sexing in Santa Inês ewes by ultrasonography. **Ciência Rural**, 36, 573-578, 2006.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., MOURA, R.T.D., LIMA, P.F., REICHENBACH, H-D., OLIVEIRA, M.A.L., 2005a. Early identification of the fetal sex in small ruminants

by ultrasonography. **Acta Scientiae Veterinariae** 32, 131-134.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., MOURA, R.T.D., CHIAMENTI, A., BEZERRA, F.Q.G., AGUIAR FILHO, C.R., LIMA, P.F., OLIVEIRA, M.A.L., 2005b. Sexagem fetal em cabras através da ultra-sonografia. **Acta Scientiae Veterinariae** 32, 247.

SANTOS, M.H.B., MORAES, E.P.B.X., RABELO, M.C., MELO, A.N., LIMA, P.F. OLIVEIRA, M.A.L., 2005c. Fetal sexing by ultrasonography in ewe of Santa Inês breed. **Acta Scientiae Veterinariae** 32, 247.

STROUD, B.K., 1996. Using ultrasonography to determine bovine fetal sex. *Veterinary Medicine* 91, 663-672.

WHITE, I.R. et al. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and determination of fetal numbers in sheep. *Vet. Record*, v.115, p.140-143, 1984.

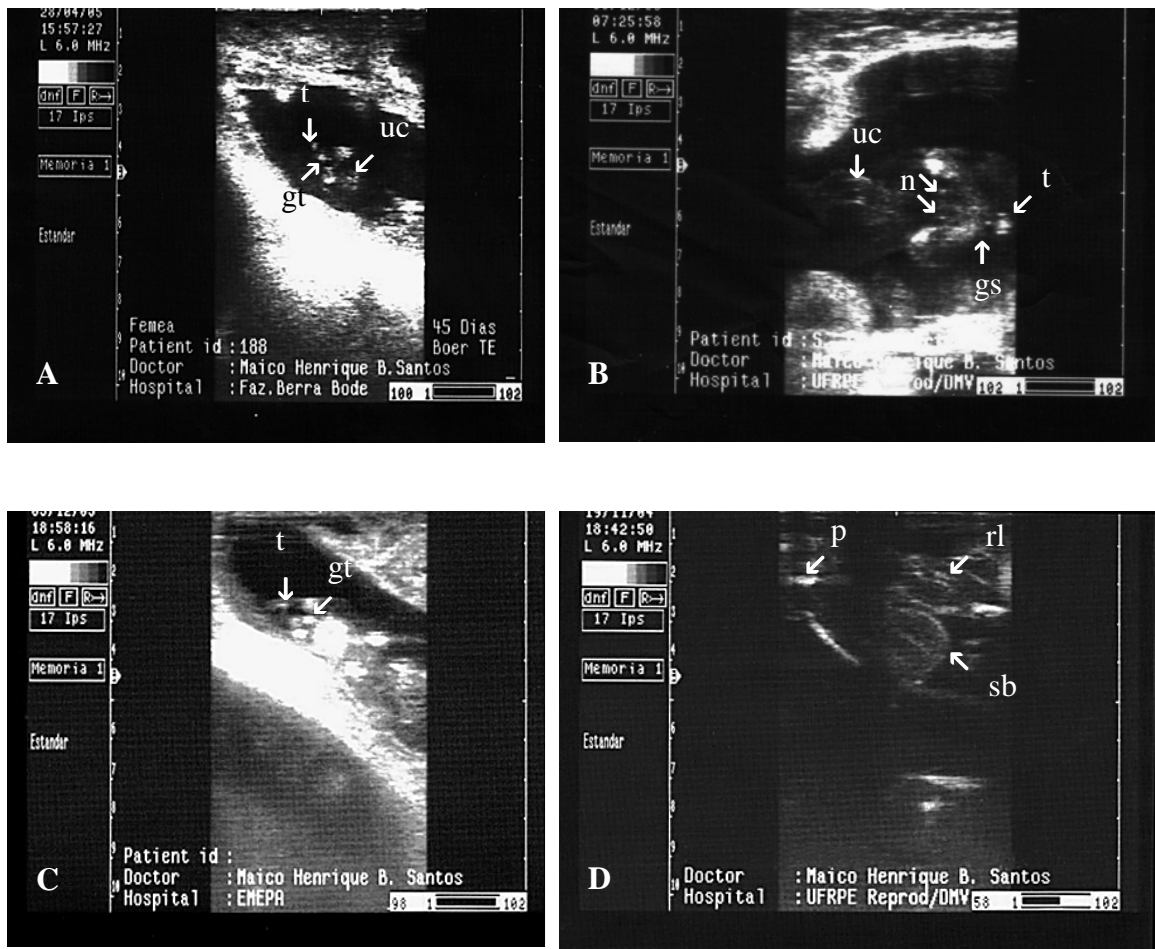


Figure 1 – Images of female fetus (A and B), highlighting the genital tubercle (gt), umbilical cord (uc), tail (t), genital swelling (gs) and nipples (n). Images of the male fetus (C and D), showing the genital tubercle (tg) close to the umbilical cord (uc), rear limbs (rl), scrotal bag (sb) and prepuce (p).

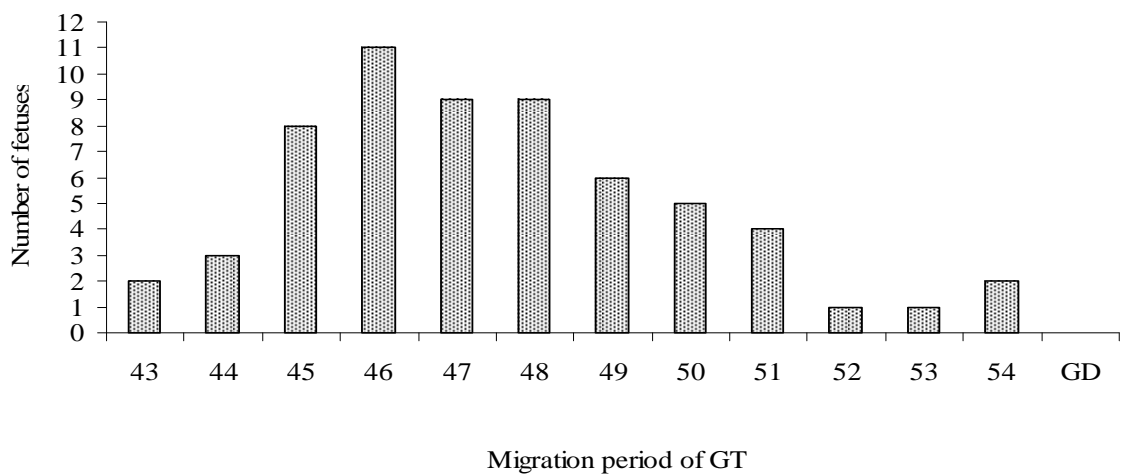


Figure 2 – Gestational day (GD) in which occurred the GT migration for Boer breed fetuses.

Table 1 – Fetal sexing in goats of Boer breed through daily ultrasonographic monitoring between the 40th and 60th gestational day.

Kind of gestation	Correctly sexed	Non-sexed	Born Fetuses	Diagnosis
	Fetuses n	Fetuses n	n	Accuracy n (%)
Single	8	-	8	8/8 (100)
Twin	31	1	32	31/32 (96,9)
Tripled	21	-	21	21/21(100)
Total	60	1	61	60/61 (98,3)

Table 2 – Fetal sexing in goats of Boer breed, from embryo transference, through a single ultrasonographic exam between the 45th and 60th gestational day.

Kind of gestation	Correctly sexed	Non-sexed Fetuses	Born Fetuses	Diagnosis
	Fetuses n	n	n	Accuracy n (%)
Single	17	1	18	17/18(94,4)
Twin	21	5	26	21/26 (80,8)
Tripled	3	-	3	3/3(100)
Total	41	6	47	41/47 (87,2)

Early fetal sexing of dairy goats by ultrasonography

**Maico Henrique Barbosa dos Santos^a, Érica Paes Barreto Xavier de Moraes^a,
Roseana Tereza Diniz de Moura^a, Marcelo Cavalcanti Rabelo^a,
Arthur Nascimento Melo^b, Cristiano Rocha de Aguiar Filho^b,
Paulo Fernandes de Lima^c, Marcos Antonio Lemos de Oiveira^{c,*}**

*^aPrograma de Pós-Graduação em Ciência Veterinária – UFRPE, Av. D. Manoel de Medeiros s/n,
Dois Irmãos, CEP 52171 900 Recife – PE, Brazil*

*^bCurso de Graduação em Medicina Veterinária – UFRPE, Av. D. Manoel de Medeiros s/n,
Dois Irmãos, CEP 52171 900 Recife – PE, Brazil*

*^cDepartamento de Medicina Veterinária – UFRPE, Av. D. Manoel de Medeiros s/n,
Dois Irmãos, CEP 52171 900 Recife – PE, Brazil *maloufrpe@uol.com.br; malo@ufrpe.br*

Abstract

The purpose of the present study was to determine fetal sex early by ultrasonography in Saanen (n = 82) and American Alpine (n = 56) goats at different stages of pregnancy. In all experiments (EI, EII, EIII, EIV), fetal sexing was performed based on the localization of the genital tubercle (GT) and identification of external genitalia. Transrectal ultrasound was carried out with an apparatus equipped with a linear array transducer (6.0 and 8.0 MHz). In EI, American Alpine females (n = 24) at a gestational age between 45 and 70 days were examined only once. In EII, American Alpine females (n = 32) were monitored every 12 hours from day 39 to day 57 of pregnancy. In EIII, Saanen females (n = 36) at a gestational age between 47 and 77 days were examined only once. In EIV, Saanen females (n = 46) were monitored every 48 hours from day 40 to day 55 of pregnancy. In EI, the accuracy of fetal sexing was 85.7% (12/14) for single pregnancies and 80.0% (16/20) for twin pregnancies, with no difference between pregnancies ($P > 0.05$). In EII, the accuracy was 100% (14/14) for single pregnancies, 87.5% (28/32) for twin pregnancies, and 66.7% (4/6) in triple pregnancies, with this difference being significant ($P \leq 0.05$). In EIII, the accuracy was 100% (24/24) for single pregnancies, 72.7% (16/22) for twin pregnancies, and 66.7% (2/3) for triple

pregnancies. The accuracy of fetal sexing was higher ($P \leq 0.05$) for single pregnancies than for twin and triple pregnancies. In EIV, the accuracy was 100% (20/20) for single pregnancies, 80.9% (34/42) for twin pregnancies, 66.7% (8/12) for triple pregnancies, and 50.0% (2/4) for quadruple pregnancies. The diagnostic accuracy was higher ($P \leq 0.05$) for females with single pregnancies than for females with twin, triple and quadruple pregnancies. Considering all born fetuses, the total accuracy of diagnosis was 86.6% (26/34) in EI, 88.5% (46/52) in EII, 85.7% (42/49) in EIII, and 82.0% (64/78) in EIV, with no difference between experiments ($P > 0.05$). Migration of the GT was observed on day 46.4 ± 2.1 of pregnancy in American Alpine fetuses and on day 48.9 ± 1.8 in Saanen fetuses. The results permit us to conclude that real-time ultrasonography is an efficient method to diagnose fetal sex by visualization of the GT and identification of external genitalia, when scanning is performed after day 55 of pregnancy.

Keywords: genital tubercle, penis, prepuce, scrotal bag, nipples, genital swelling.

1. Introduction

Application of transrectal real-time ultrasonography as a research tool for the study of caprine reproduction represents a technological breakthrough that has revolutionized our understanding of reproductive biology in goats (Messias et al., 2004; Oliveira et al., 2004; Reichenbach et al., 2004; Santos et al., 2004ab). The widespread adoption and use of ultrasonography for routine reproductive examinations of dairy goats by caprine practitioners is the next contribution that this technology will make to the dairy industry.

Assessment of pregnancy status and fetal viability during the early postbreeding period for the identification of goats that fail to conceive improves reproductive efficiency by

decreasing the interval between services (Haibel, 1990; Moraes et al., 2005). Early identification of goats carrying twin, triple or quadruple fetuses will permit the development and implementation of different management strategies to abrogate the negative effects of multiple fetuses during the periparturient period (Martinez et al., 1998). Ovarian and uterine diseases can be easily visualized by ultrasound and appropriate therapies can be implemented (Moraes et al., 2005).

Determination of fetal sex in utero is useful when combined with a management decision that justifies the expense of fetal sexing (Santos et al., 2005). The development of integrated reproductive management systems that combine ultrasound with new and existing reproductive technologies will further increase the practical applications of ultrasonography. The genital tubercle (GT) is the embryonic structure that differentiates into the penis in males and into the clitoris in females (Noden and Lahunta, 1985). During differentiation, the GT moves from its initial position between the hind limbs toward the umbilical cord in males and toward the tail in females.

Several studies on fetal sex determination in sheep are available in the literature (Coughbrough and Castell, 1998; Bürstel et al., 2001; Bürstel, 2002; Bürstel et al., 2002; Andrade et al., 2004; Santos et al., 2005). However, to our knowledge, there are no reports on fetal sex determination by ultrasonography in goats. Therefore, the purpose of the present study was to determine fetal sex early by ultrasonography in goats at different stages of pregnancy based on the location of the GT and identification of external genitalia.

2. Material and methods

This study, divided into four experiments (EI, EII, EIII and EIV), was carried out using 56 American Alpine and 82 Saanen goats.

Transrectal ultrasonography was carried out with an ultrasound apparatus (model 240 Parus, Pie Medical) equipped with a linear array transducer (6.0 and 8.0 MHz) coupled to an adapted device to facilitate intrarectal manipulation as suggested by Oliveira et al. (2004). A printer (Seikosh VP/1200, Sony) was also part of the ultrasound equipment.

In all experiments, scanning was performed by the same operator with the goats in the standing position and the sex was identified by visualization of the external genitalia (penis, prepuce or scrotal bag in male fetuses and nipples or genital swelling in female fetuses), as well as visualization and localization of the GT. The fetus was classified as a male when the GT was located immediately caudal to the umbilical cord and as a female when it was located near the tail (Figure 1).

In EI, American Alpine females (n = 24) at a gestational age between 45 and 70 days were examined only once. The sex was determined by visualization of the GT or identification of external genitalia.

In EII, American Alpine females (n = 32) were monitored every 12 hours from day 39 to day 57 of pregnancy. The sex was determined by visualization of the GT.

In EIII, Saanen females (n = 36) at a gestational age between 47 and 77 days were examined only once. The sex was determined by visualization of the GT or identification of external genitalia.

In EIV, Saanen females (n = 46) were monitored every 48 hours from day 40 to day 55 of pregnancy. The sex was determined by visualization of the GT.

The data obtained were analyzed statistically by the chi-square test, with the level of significance set at 5% probability.

3. Results

In EI, two false diagnoses were made for females with single pregnancies (Table 1). The fetuses were initially identified as females but were born as males. In two of the females with twin pregnancies the position of the fetuses in the uterus did not permit sex identification. In the other females, regardless of the type of pregnancy, sexing was performed correctly both in single (14) and twin pregnancies (16).

In EII, the accuracy of fetal sexing was influenced by pregnancy type, with accuracy being higher in single than in triple pregnancies ($P < 0.05$). However, no significant difference was observed between twin and single pregnancies or between twin and triple pregnancies ($P > 0.05$). All single pregnancies (14/32) were identified correctly, with eight females and six males being born. Concerning twin pregnancies (16/32), there were four events for which, although the concepti were identified correctly, it was not possible to identify the sex of two fetuses due to an unsuitable position during diagnosis. Triple pregnancy fetuses were correctly quantified, except for two pairs which could not be identified. Two male fetuses were not correctly sexed because it was difficult to observe all fetuses in the same ultrasound scanning (Table 2).

In two single pregnancies of nulliparous females of EII, it was possible to locate the GT in the umbilical region on day 40 of pregnancy and to identify male fetuses on the next day. However, in another exam it was only possible to determine the fetal sex based on the location of the GT on day 51 of pregnancy (Figure 2). In this experiment, fetal sexing was performed (mean \pm SEM) 46.4 ± 2.1 days after breeding.

In EIII, 80.6% (29/36) of correct ultrasound diagnoses were obtained when considering single (24/29) and twin pregnancies (5/29). Among the seven remaining diagnoses, the sex of only one fetus of each twin pregnancy could be determined in six, and in

one triple pregnancy only two fetuses were quantified and sexed. Although no mistakes in fetal sexing were made, there were three events in which only one fetus was visualized in a twin pregnancy (Table 3).

In EIV, 20 single pregnancies were diagnosed among the 46 females studied and all fetuses were correctly sexed. The remaining diagnoses included 21 twin and four triple pregnancies and one quadruple pregnancy. In eight females with twin pregnancies, the position of the fetus did not permit the determination of fetal sex in one of the fetuses. In the remaining females, the fetal sex of only two fetuses of each female could be determined in either triple or quadruple pregnancies. There were no mistakes in quantifying or determining fetal sex (Table 4). The accuracy of fetal sexing was higher for single pregnancies than for the other pregnancy types ($P \leq 0.05$), and no significant difference was observed between twin, triple and quadruple pregnancies.

Although the exams were started on day 40 of pregnancy, visualization of the GT in Saanen goats was only possible from day 45 on, but all fetuses were correctly sexed only on day 55 based on GT location (Figure 2). Migration of the GT was observed (mean \pm SEM) 48.9 ± 1.8 days after mating. As demonstrated in prior experiments, fetal sex determination in multiple pregnancies is always difficult when performed during the same exam.

Considering all born fetuses, the total accuracy of diagnosis was 86.6% (26/34) in EI, 88.5% (46/52) in EII, 85.7% (42/49) in EIII, and 82.0% (64/78) in EIV, with no difference between experiments ($P > 0.05$).

4. Discussion

The mistakes made in single pregnancies, when female fetuses were diagnosed instead of males, can be attributed to the fact that females were in the initial stage of pregnancy in which total GT migration had not taken place and other characteristic male anatomic

structures used for this purpose had not yet formed. This hypothesis agrees with Davey (1986), Kähn et al. (1993) and Kaulfuss et al. (1996), who stated that scanning male fetuses is easier because of the presence of a larger number of anatomic structures which are helpful to determine the sex of fetuses.

Although the shorter length of the tail of the conceptus in goats does not prevent or even hide visualization of the vulva and the teats in females and the scrotal bag in males (Bürstel, 2002,) the umbilical cord, when positioned between the hind limbs may prevent or hide the visualization of the teats, vulva and scrotal bag, but there will still be the GT or the prepuce and even the penis to be properly visualized.

The results obtained for EI and EIII were considered to be satisfactory, taking into account that only one examination was performed under field conditions since, according to Reichenbach (2004), it would be cautious to repeat the examination at least once. In agreement with Bürstel (2002), who commented on the possibility of observing the small differences in GT position only after day 40 of pregnancy, the results of this study not only support this report, but also permit to suggest that GT migration towards the umbilical region is visualized from day 41 or 45 of pregnancy in American Alpine and Saanen goats, respectively. However, it is also interesting to point out that this process is supported by EII and EIV, where it was observed that GT migration is more concentrated between days 44 and 48 of pregnancy in the American Alpine breed and between days 48 and 50 in the Saanen breed.

The rates obtained for single pregnancies, especially in EIII, were higher than those reported by Coughbrough and Catell (1998) and Bürstel (2002), with the former authors reporting that it was impossible to determine the fetal sex in 7% of the animals examined by the transrectal route.

Regarding multiple pregnancies, the mistakes made were related to the impossibility to sex the fetuses or to the quantification of the concepti, but there were no failures in sex determination. This finding indicates that the linear transducer used transrectally is an efficient method for sexing between days 39 and 77 of pregnancy, regardless of whether the pregnancy is single or multiple. This result again contradicts Bürstel et al. (2002) who did not recommend the use of this examination method in multiple goat pregnancies. The experience of the operator, as previously emphasized, and the quality of the ultrasound equipment available are fundamental for the success of fetal sexing during any period of pregnancy. In the specific case of the present study, in which a linear transducer with double frequency was used, we may assume that the equipment contributed to the results, which were more expressive than those reported by Coughbrough and Castell (1998) and Bürstel (2002).

Presentation of the fetus at the time of assessment and the number of examinations made on the same animal are decisive factors for visualizing the anatomic structures, because it is not always possible to sex at a given time. As suggested by Bürstel (2002), a series of exams at intervals of 24, 48, or 72 hours or even at longer intervals are necessary to precisely diagnose the sex of the fetus. The present study demonstrated that ultrasound scanning performed at short intervals is not always sufficient to enhance the accuracy of fetal sex determination.

Although no significant difference was observed between single and twin pregnancies in EII, the accuracy of fetal sex determination was found to decline significantly for triple or quadruple pregnancies in American Alpine and Saanen goats.

The incorrect position of the conceptus, obstructing the visualization of anatomic structures used for sex determination, is a characteristic that impairs ultrasound scanning especially in multiple pregnancies. The same problem regarding fetal sex determination or fetus quantification due to fetus interposition (Bürstel, 2002), which is almost always

associated with incorrect diagnoses, has also been reported by other investigators (White, 1984; Gearhart, 1988; Haibel, 1990; Bürstel, 2002).

Although this was an unexpected result, ultrasound exams performed at short time intervals did not prevent the mistakes regarding quantification or fetal sex determination, especially in multiple pregnancies. In addition, as observed in the present study, exams performed at shorter time intervals cannot be carried out under field conditions because of the long distances, thus increasing the cost of this procedure. In multiple pregnancies and regarding a particular period, it is not always possible to identify the sex of all fetuses or to quantify them, as also stated by Reichenbach et al. (2004). The authors reported that not only the need for sophisticated equipment and qualified technicians, but also the necessity of repeated exams especially in multiple pregnancies limit fetal sex determination under field conditions.

The greatest challenge of fetal sexing in small ruminants continues to be the determination of the earliest time when it is possible to visualize the position of the GT, thus permitting greater sexing accuracy. Although the average time of GT migration was close to day 50 after mating in both breeds (46.4 ± 2.1 days in Alpine American and 48.9 ± 1.8 days in Saanen goats), migration may occur at a broad interval, from day 41 to day 51 of pregnancy in American Alpine goats and from day 45 to day 55 in Saanen goats. Therefore, ultrasound scanning should be carried out after day 55 to avoid or reduce mistakes resulting from possible variations among animals of the same or different breeds and, according to Santos et al. (2005), even among fetuses resulting from natural mating and embryo transfer, especially when the fetuses are derived from frozen embryos.

In conclusion, real-time ultrasonography is an efficient method for determining fetal sex both by visualization of the GT and by identification of structures related to the external genitalia, since the exams can be carried out during the adequate gestational period.

References

- Aiumlamai, S., Fredricksson, G., Nislfors, L., 1992. Real-time ultrasonography for determination of the gestational age of ewes. *Vet. Rec.* 131, 560-62.
- Barros, B.J.P., Visintin, J.A., 2001. Ultrasonic control of early pregnancies, embryonic and fetal mortalities and fetal sex in zebu cattle. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 38, 74-79.
- Bürstel, D., 2002. Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie. Hannover: Thesis (Doctor in Veterinary Medicine), College of Veterinary Medicine of Hannover.
- Bürstel, D., Meinecke-Tillmann, S., Meinecke, B., 2001. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. In: 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Vienna, Austria. Vienna: ESDAR Newsletter, pp.53-54.
- Bürstel, D., Meinecke-Tillmann, S., Meinecke, B., 2002. Ultrasonographic diagnosis of fetal sex in small ruminants bearing multiple fetuses. *Vet. Rec.*, 151, 635-636, 2002.
- Catt, S.L., Catt, J.W., Gomez., M.C., Maxell, W.M.C., Evans, G., 1996. Birth of a male lamb derived from an in vitro matured oocyte fertilised by intracytoplasmic injection of a single presumptive male sperm. *Vet. Rec.* 39, 494-495.
- Chalhoub, M., Ribeiro Filho, A.L., 2002. Diagnóstico de gestação em pequenos ruminantes por ultra-sonografia de tempo real. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 5, 27-30.
- Chavez Moreno, J.C., Steinmann Chavez, E., Bickardt, K., 1996. Fetale Herzfrequenzmessung und sonographische Fetometrie zur Bestimmung des Trächtigkeitsstadiums beim Schaf. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 103, 478-480.
- Coughbrough, C.A., Castell, M.C., 1998. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. *Theriogenology* 50, 263 - 267.

- Cran, D.G., Mckelvey, W.A.C., King, M.E., Dolman, D.F. McEvoy, T.G., Broadbent, P.J., Robinson, J.J., 1997. Production of lambs by low dose intrauterine insemination with flow cytometrically sorted and unsorted semen. *Theriogenology* 42, 267.
- Curran, S., 1992. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. *Theriogenology* 37, 17-21.
- Curran, S., Ginther, O.J., 1991. Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm conditions. *Theriogenology* 36, 809-814.
- Curran, S., Kastelic, J.P., Ginther, O.J., 1989. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Anim. Reprod. Sci.* 19, 217-227.
- Garner, D.L., 2001. Sex-sorting mammalian sperm: concept to application in animals. *J. Androl.* 22, 519-526.
- Gregory, R.M., Cardoso, L., Mattos, R.C., 1995. Sexagem dos fetos bovinos através da ultrasonografia. In: *Proceedings of the 11 Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, pp.412.
- Gutierrez-Adan, A., Cushwa, W.T., Anderson, G.B., Medrano, J.F., 1997. Ovine-specific Y-chromosome RAPD-SCAR marker for embryo sexing. *Anim. Gen.* 28, 135-138.
- Haibel, G.K., 1990. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 3, 597-613.
- Johnson, L.A., 2000. Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the-art. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 93-107.
- Merkt, H., Moura, J.C.A., 2000. Geschlechtsbestimmung von Pferdefeten zwischen dem 50. und 93. Tag der Trächtigkeit mittels Sonographie. *Tierärztl. Prax.* 28, 166-171.
- Merkt, H., Moura, J.C.A., Jöchle, W., 1999. Gender determination in equine fetuses between days 50 and 90 of pregnancy. *J. Equine Vet. Sci.* 19, 90-94.

- Messias, J.B., Souza, D.M.B., Santos, M.H.B., Moraes, E.P.BX., 2004. Estimativa da idade e do peso embrionário e fetal através da ultra-sonografia. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.), Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo, Brazil: Varela. pp.149-157.
- Moraes, E.P.B.X., Santos, M.H.B., Rocha, J.M., Arruda, I.J., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L., 2005. Incidence of hydrometra and mucometra in goats. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 463.
- Nan, D., Van Oord, H.A., Taverne, M.A.M., 2001. Determination of foetal gender in sheep by transabdominal ultrasonographic scanning. In: 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Vienna, ESDAR Newsletter, pp.70.
- Oliveira, M.A.L., Reichenbach, H-D., Santos, M.H.B., Tenório Filho, F., 2004. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.), Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo, Brazil: Varela. pp.85-96.
- Reichenbach, H-D., Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Meinecke-Tillmann, S., Bürstel, D-M., 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.), Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo, Brazil: Varela. pp.117-136.
- Santos, M.H.B., Lima, P.F., Messias, J.B., Oliveira, M.A.L., 2004a. Medidas do concepto utilizadas na prática ultra-sonográfica de pequenos ruminantes. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.), Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo, Brazil: Varela. pp.117-136.
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Moura, R.T.D., Lima, P.F., Reichenbach, H-D., Oliveira, M.A.L., 2005. Early identification of the fetal sex in small ruminants by Itrasonography. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 131-134.

- Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F., Moraes, E.P.B.X., Chalhoub, M., Bicudo, S.D., 2004b. Diagnóstico de gestação por ultra-sonografia de tempo real. In: Santos, M.H.B., Oliveira, M.A.L., Lima, P.F. (Eds.), Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo, Brazil: Varela. pp.117-136.
- Stroud, B.K., 1996. Using ultrasonography to determine bovine fetal sex. *Veterinary Medicine* 91, 663-672.
- Viana, J.H.M., Viana, A.K.M., Ferreira, A.M., 2000. Sexagem fetal por meio de ultra-sonografia em receptoras inovuladas com embriões da raça holandesa. In: Anais da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa, pp.186.

Table 1 – Identification of fetal sex in American Alpine goats by a single examination of females at a gestational age between 45 and 70 days.

Pregnancy	Correctly sexed fetuses		Incorrectly sexed fetuses		Non-sexed fetuses		Fetuses born n	Accuracy of diagnosis n (%)
	Male n	Female n	Male n	Female n	Male n	Female n		
Single	6	6	2	-	-	-	14	12/14 (85.7)
Twin	8	8	-	-	2	2	20	16/20 (80.0)
Total	14	14	2	-	2	2	34	28/34 (82.4)

Table 2 – Fetal sexing of American Alpine goats monitored every 12 hours between day 39 and day 57 of pregnancy.

Pregnancy	Sexed fetuses		Non-sexed fetuses		Fetuses born n	Accuracy of diagnosis n (%)
	Male n	Female n	Male n	Female n		
Single	6	8	-	-	14	14/14 (100.0) ^a
Twin	14	14	2	2	32	28/32 (87.5) ^{ab}
Triple	2	2	2	-	6	4/6 (66.7) ^b
Total	22	24	4	2	52	46/52 (88.5)

Different superscript letters in the last column denote significant differences ($P < 0.05$).

Table 3 – Identification of fetal sex in Saanen goats by a single examination of females at a gestational age between 47 and 77 days.

Pregnancy	Sexed fetuses		Non-quantified fetuses		Fetuses born n	Accuracy of diagnosis n (%)
	Male n	Female n	Male n	Female n		
Single	15	9	-	-	24	24/24 (100.0) ^a
Twin	8	8	2	4	22	16/22 (72.7) ^b
Triple	-	2	-	1	3	2/3 (66.7) ^b
Total	23	19	2	5	49	42/49 (85.7) ^b

Different superscript letters in the last column denote significant differences ($P < 0.05$).

Table 4 – Fetal sex determination in Saanen goats examined every 48 hours between day 40 and day 55 of pregnancy.

Pregnancy	Sexed fetuses		Non-sexed fetuses		Fetuses born n	Accuracy of diagnosis n (%)
	Male n	Female n	Male n	Female n		
Single	12	8	-	-	20	20/20 (100.0) ^a
Twin	16	18	5	3	42	34/42 (80.9) ^b
Triple	6	2	1	3	12	8/12 (66.7) ^b
Quadruple	1	1	1	1	4	2/4 (50.0) ^b
Total	35	29	7	7	78	64/78 (82.0)

Different superscript letters in the last column denote significant differences ($P < 0.05$).

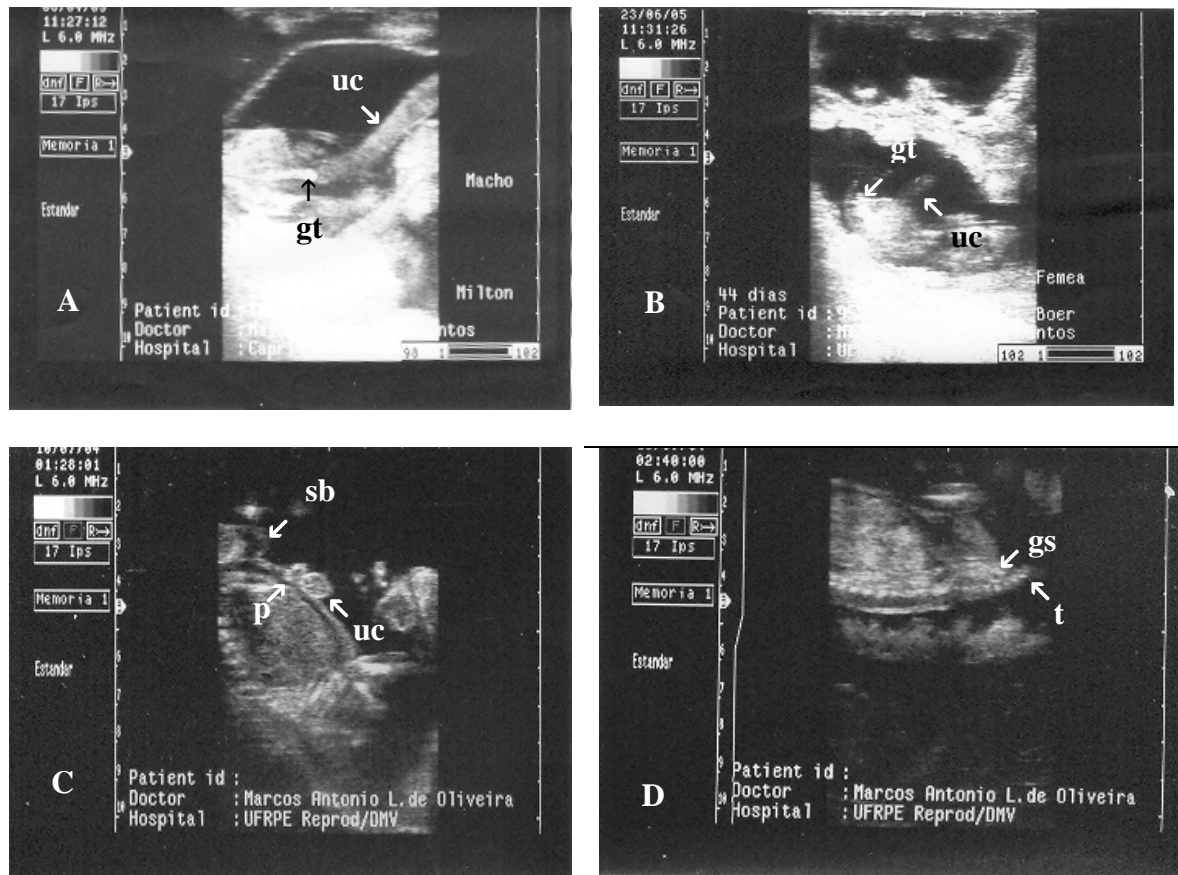


Figure 1 – Ultrasound images of goat concepti. Male fetuses showing: A - genital tubercle (gt) and umbilical cord (uc); C – umbilical cord (uc), prepuce (p) and scrotal bag (sb). Female fetuses showing: B – genital tubercle (gt) and umbilical cord (uc); D – tail (t) and genital swelling (gs).

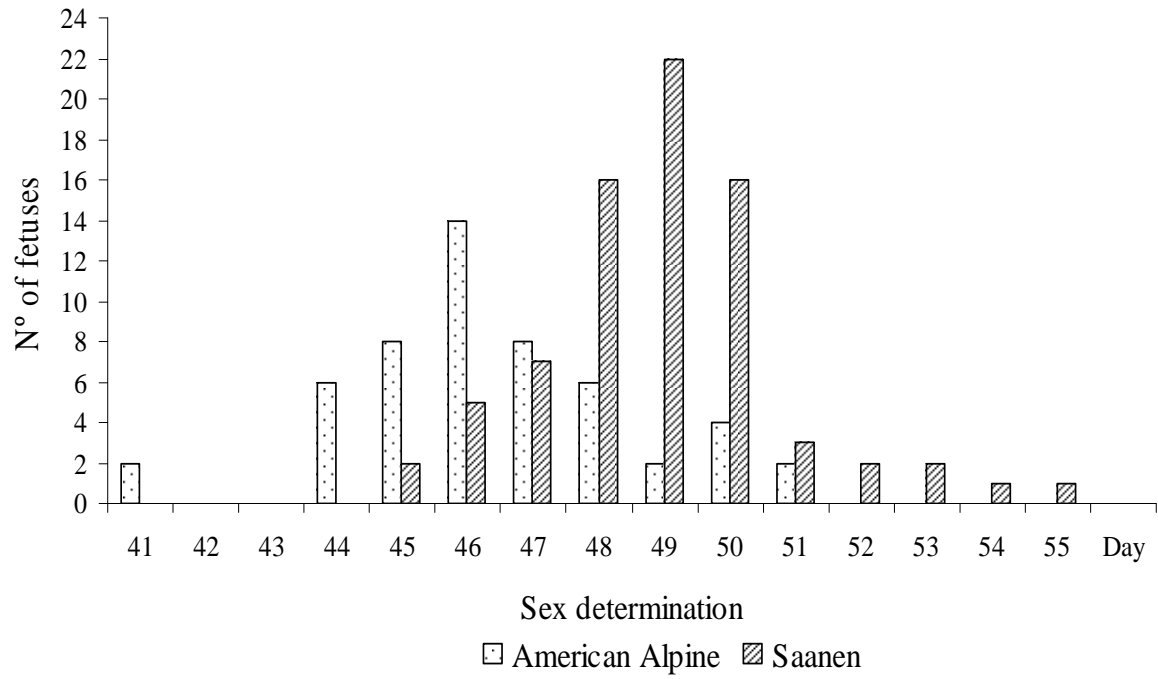


Figure 2 – Daily monitoring to determine the period of genital tubercle migration in American Alpine and Saanen goats.

Accuracy of early fetal sex determination by ultrasonic assessment in goats

Maico Henrique Barbosa dos Santos¹, Érica Paes Barreto Xavier de Moraes¹,
Arthur Nascimento Melo¹, Cristiano Rocha de Aguiar Filho¹, Horst-Dieter Reichenbach³
Paulo Fernandes de Lima^{1,2}, Marcos Antonio Lemos de Oliveira^{1,2(*)}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, ^{1,2}Departamento de Medicina Veterinária,
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n 52171 900 Recife-PE,
Brazil (maloufrpe@uol.com.br), ³Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft/LfL, Prof.-
Dürnwächter-Platz 1, 85586 Poing-OT/Grub, Germany,

(*)Corresponding author

Abstract

The objective of this study was to determine the accuracy of early fetal sex determination by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle (GT) in goats at different stages of pregnancy as well as by the identification of fetal external genitalia organs. Pregnant animals were distributed in three experimental groups (EI, EII, EIII). In EI, females (n = 8) were transrectally monitored daily from Days 45 to 60 of pregnancy with a linear transducer (6.0 and 8.0 MHz). In EII, females (n = 12) were examined once between Days 45 to 70 of pregnancy by transrectal ultrasonography. In EIII does (n = 33) between Days 100 to 120 of pregnancy, were submitted to a single transabdominal ultrasonography using a convex transducer (5.0 and 7.5 MHz). Regardless of the determination of fetal sex, 100% (EI), 72.0% (EII) and 64.3% (EIII) of the examined animals were correctly identified as single pregnancies and 75.0% (EI), 80.0% (EII) and 55.33% (EIII) as carrying twins. The accuracy of diagnosis did not differ ($P > 0.05$) between single and twin pregnancies. Identification of the GT in male fetuses was possible from Day 48 onward. Between Days 54 to 60 of pregnancy, changes in the GT position were not observed. Accuracy of fetal sexing under field conditions is high in goats when ultrasound imaging is properly timed during pregnancy and when it is performed with proper equipment and by experienced operators.

Keywords: ultrasonography, fetal sex determination, genital tubercle, external genitalia

Introduction

Early fetal sex determination by ultrasonography has been successful in cattle and horses, based on the detection and location of GT and of external genitalia (Curran and Ginther 1991; Curran 1992).

Fetal sex can be determined by ultrasonography between Days 55 and 75 of pregnancy in horses (Merkt and Moura 2000) and from Day 50 onward in cattle (Curran *et al* 1989; Stroud 1996), emphasizing that in cattle fetal sex can be accurately established around Day 60 of pregnancy (Barros and Visintin 2001). The accuracy of early fetal sex determination by ultrasonic assessment of the relative location of the GT is close to 100% in cattle (Gregory *et al* 1995; Viana *et al* 2000) and horses (Merkt *et al* 1999). In goats, this method was first reported by Coughbrough and Castell (1998).

In small ruminants, fetal sexing has been used in basic research after artificial insemination with sexed semen (Cran *et al* 1997; Johnson 2000; Garner 2001) and after sexed embryo transfer (Gutierrez-Adan *et al* 1997) or by *in vitro* produced embryos by the intracytoplasmic sperm injection technique (ICSI).

Application of fetal sexing in goat is more likely suited for dairy herds because it would allow better planning of acquirement and commercialization of animals (Haibel 1990; Chalhoub and Ribeiro Filho 2002), allowing the marketing of male and female fetuses while still in uterus. This primary application would allow a greater concentration of females in milk herds and males in meat herds of goats (Reichenbach *et al* 2004).

Ultrasonic fetal sexing in small ruminants is still restricted, especially in the Northeast region of Brazil, which has the highest concentration (90%) of goats (IBGE, 2002). The diffusion of this technique, especially under field conditions, depends on the accuracy of the method since factors such as multiple gestation and number and frequency of examinations can lead to a false diagnosis (Bürstel 2002; Oliveira *et al* 2005; Santos *et al* 2005abc).

Although the GT location can be detected accurately by ultrasound in small ruminants (Coughbrough and Castell 1998; Bürstel 2002), the optimal period of pregnancy is crucial to obtain the highest efficiency (Oliveira *et al* 2005; Santos *et al* 2005abc; Santos *et al* 2006).

The objective of this study was to determine the accuracy of early fetal sex determination by ultrasonic assessment of the relative location of the GT in goats at different stages of pregnancy as well as by the identification of fetal external genitalia organs.

Material and Methods

This study was divided in three experiments (EI, EII, EIII) using 53 goats, pregnant with 79 fetuses of undefined breed.

The examinations were performed with an ultrasound (model 240 Parus – Pie Medical) equipped with a linear transducer (6.0 and 8.0 MHz) attached to an adapted device, to facilitate manipulation in the rectum as suggested by Oliveira *et al* (2004), and a convex transducer (5.0 and 7.5MHz). Data were documented with a VHS and video printer (Seikosha VP/1200 – Sony).

All experiments were performed by the same operator. The fetal sex was determined by visualizing the external genitalia (penis, prepuce, scrotal bag, nipples and genital swelling) and/or localizing the GT (Figure 1), as described by Reichenbach *et al* (2004). The fetus was recorded as a male when the GT was located immediately caudal to the umbilical cord and as a female when it was located near the tail.

In EI, pregnancy diagnosis was performed between Days 30 and 35 after mating. The fetuses (n =9) were monitored daily, from Days 45 to 60 of pregnancy to determine the migration of the GT. The scans were performed transrectally with a linear transducer (6.0 and 8.0 MHz) and the fetal sex was initially determined by localizing the GT and later confirmed by the identification of the external genitalia organs.

In EII, pregnancies (fetuses, n=17) between Days 45 and 70 were transrectally examined once with a linear transducer (6.0 and 8.0 MHz). The fetal sex was determined as described above for EI.

In EIII, fetuses (n = 52) between Days 100 and 120 of pregnancy were examined trans abdominally once with a convex transducer (5.0 and 7.5 MHz). The fetal sex was determined by identification of external genitalia organs.

The accuracy of diagnosis among single and twin pregnancies as well as among the experimental groups was analyzed by the chi-square test.

Results

In EI, the first and last migration of the GT in 2 male fetuses occurred, respectively, between Days 48 and 53 of pregnancy. In this experiment, fetal sexing was performed (mean \pm SEM) 50.4 ± 2.3 days after breeding. From Days 54 to 60 of pregnancy changes in the GT position were not observed (Figure 2).

From 8 pregnant goats there were 6 single pregnancies (75.0%) and 2 animals carried twins (25.0%). The accuracy of sex diagnosis did not differ ($P > 0.05$) among both groups (Table 1).

In EII, from 12 pregnant goats, 7 were single pregnancies (58.3%) and 5 animals carried twins (41.7%). There was no difference ($P > 0.05$) on the accuracy of diagnosis between both groups (Table 2).

In EIII, from 33 pregnant goats, 14 showed single (42.4 %) and 19 twin pregnancies (57.6 %). There were no differences ($P > 0.05$) among both groups (Table 3).

The accuracy of diagnosis among EI (90.0%), EII (76.4%) and EIII (57.7%) was not different ($P > 0.05$).

Discussion

The accurate (100%) diagnosis rate obtained in single pregnancies in EI was higher than those obtained by Coughbrough and Castell (1998) and Bürstel (2002). Coughbrough and Castell (1998) reported that it was not possible to identify the fetal sex in 7% of the animals by transrectal ultrasonography. In the present study, the ultrasonographic presentation of the fetus at the time of examination and the number of examinations performed in a same animal were decisive success factors.

In order to obtain high accuracy of diagnosis, it is essential to perform a sequence of examinations at intervals of 24, 48, or 72 hours or even at longer intervals as suggested by Bürstel (2002) and Reichenbach *et al* (2004). In the present study daily examinations did not improve diagnosis.

In EI, only one mistake occurred in one of the two animals carrying twins. This false diagnosis resulted from an animal carrying twins that was mistakenly identified as a single pregnancy, however there were no failures in sex determination. It can be concluded that transrectal ultrasonography using the linear transducer is effective for sexing goat fetuses between Days 45 and 60 of pregnancy in both single and twin pregnancies. This result contradicts the findings of Bürstel *et al* (2002), who obtained lower results in multiple sheep and goat pregnancies.

Accuracy in fetal sexing in small ruminants highly depends on the time of GT migration, particularly in goats. According to Oliveira *et al* (2005), in American Alpine goat fetuses the migration of the GT occurs around Day 46.4 ± 2.1 of pregnancy and in Saanen goats on Day 48.9 ± 1.8 . In the present study, the migration of the GT occurred around Day 50 of pregnancy (50.4 ± 2.3). Although the beginning of GT migration occurs from Day 48 onward, we suggest that examinations should be performed between Days 55 and 70 of pregnancy in order to avoid mistakes resulting from individual and breed specific variations.

In EII, satisfactory results were obtained considering animals were submitted to single examinations. In order to optimize results, Reichenbach *et al* (2004) recommended repeating the examination at least once, under field conditions. The GT position for sexing is better defined from Day 48 of pregnancy onward. In the present study, more mistakes occurred between Day 45 and 47 of pregnancy. In EI, the determination of the position of GT was possible in all animals from Day 48 of pregnancy onward.

The determination of the fetal sex by abdominal transcutaneous ultrasonography in small ruminants can be performed between Days 50 and 70 of pregnancy (Bürstel *et al* 2001) or between Days 65 and 100 (Nan *et al* 2001). In multiple pregnancies, two consecutive examinations have been recommended. The first examination should be between Days 50 and 56 and the second exam between Days 66 and 70 of pregnancy (Bürstel *et al* 2001). In EIII, satisfactory results were obtained, considering that single examinations were performed in the last third of pregnancy. Higher rates could be obtained by repeated examinations (Reichenbach *et al* 2004).

The false diagnoses in EIII probably occurred due to the age and size of the conceptus. The increase in fetal size in the last two months of pregnancy reduces the space in the uterine environment and, consequently, the placenta and other fetal annexes, as well as the fetus itself, may be incorrectly interpreted as hyperechoic organs related to sexual differentiation. Furthermore, sexing at this stage is more difficult to perform than in the first two months of pregnancy, because it is hard to map and even quantify the fetuses at this time. Examinations performed under field conditions in the last third of pregnancy require more assistance to the operator thus increasing costs. According to Aiumlamai *et al* (1992) and Chavez Moreno *et al* (1996), the examination in the final third of pregnancy also requires removal of fur to an extensive area of the animal belly. This would restrict the routine application of the method under field conditions.

In a previous study using goats of Anglo-Nubian breed, Santos *et al* (2005a) concluded that fetal sex determination by ultrasonography in goats should not be performed after Day 100 of pregnancy, especially in multiple pregnancies.

It was concluded that accuracy of fetal sexing under field conditions is high in goats when ultrasound imaging is properly timed within a certain period of pregnancy and when accurately performed by experienced operators using proper equipments.

References

- Aiumlamai, S.; Fredricksson, G.; Nislfors, L., 1992. Real-time ultrasonography for determination the gestational age of ewes. *Veterinary Record*, **131**, 560-62.
- Barros, B.J.P.; Visintin, J.A., 2001 Ultrasonic control of early pregnancies, embryonic and fetal mortalities and fetal sex in zebu cattle. *Brazilian Journal of Veterinary Reserach and Animal Science*, **38**, 74-79.
- Bürstel, D., 2002. Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie, (PhD tesis, TIHO-Hannover University) 141p.
- Bürstel, D.; Meinecke-Tillmann, S.; Meinecke, B., 2001. Ultrasonographic determination of fetal sex in small ruminants. 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Vienna, ESDAR Newsletter, v.6, p.53 - 54.
- Bürstel, D.; Meinecke-Tillmann, S.; Meinecke, B., 2002. Ultrasonographic diagnosis of fetal

- sex in small ruminants bearing multiple fetuses. *The Veterinary Record*, **151**, 635-636.
- Chalhoub, M.; Ribeiro Filho, A. L., 2002. Diagnóstico de gestação em pequenos ruminantes por ultra-sonografia de tempo real. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **26**, p.27-30.
- Chavez Moreno, J.C.; Steinmann Chavez, E.; Bickardt, K., 1996 Fetale herztfrequenzmessung und sonographische Fetometrie zur Bestimmung des Trächtigkeitsstadiums beim Schaf. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **103**, 478-480.
- Coughbrough, C.A.; Castell, M.C., 1998. Fetal sex determination by ultrasonically locating the genital tubercle in ewes. *Theriogenology*, **50**, 263 - 267.
- Cran, D.G.; McKelvey, W.A.C.; King, M.E.; Dolman, D.F.; McEvoy, T.G.; Broadbent, P.J.; Robinson J.J., 1997. Production of lambs by low dose intrauterine insemination with flow cytometrically sorted and unsorted semen. *Theriogenology*, **42**, 267.
- Curran, S., 1992. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. *Theriogenology*, **37**, 17-21.
- Curran, S.; Ginther O.J., 1991. Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm conditions. *Theriogenology*, **36**, 809-814.
- Curran, S.; Kastelic, J.P.; Ginther, O.J., 1989. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Animal Reproduction Science*, **19**, 217-227.

Garner, D.L., 2001. Sex-sorting mammalian sperm: concept to application in animals. *Journal of Andrology*, v.22, 519-526.

Gregory, R.M.; Cardoso, L.; Mattos, R.C., 1995. Sexagem dos fetos bovinos através da ultra-sonografia. In: 11 Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte. CBRA, p.412.

Gutierrez-Adan, A.; Cushwa, W.T.; Anderson, G.B.; Medrano, J.F., 1997. Ovine-specific Y-chromosome RAPD-SCAR marker for embryo sexing. *Animal Genetic*, **28**, 135-138.

Haibel, G.K., 1990. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **3**, 597-613.

IBGE, 2002. Anuário Estatístico do Brasil, Rio de Janeiro, 58, 3-54.

Johnson, L.A., 2000. Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the-art. *Animal Reproduction Science*, **60-61**, 93-107.

Merkt, H.; Moura, J.C.A., 2000. Geschlechtsbestimmung von Pferdefeten zwischen dem 50. und 93. Tag der Trächtigkeit mittels Sonographie. *Tierärztliche Praxis*, **28**, 166-171.

Merkt, H.; Moura, J.C.A.; Jöchle, W., 1999. Gender determination in equine fetuses between days 50 and 90 of pregnancy. *Journal of Equine Veterinary Science*, **19**, 90-94.

- Nan, D.; Van Oord, H.A.; Taverne, M.A.M., 2001. Determination of foetal gender in sheep by transabdominal ultrasonographic scanning. 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Vienna, ESDAR Newsletter, v.6, p.70.
- Oliveira, M.A.L.; Reichenbach, H-D.; Santos, M.H.B.; Tenório Filho, F., 2004. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: Santos, M.H.B.; Oliveira, M.A.L.; Lima, P.F. (Eds.) Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo: Varela, 2004. p.85-96.
- Oliveira, M.A.L.; Santos, M.H.B.; Moraes, E.P.B.X.; Moura, R.T.D.; Chiamenti, A.; Bezerra, F.Q.G.; Rabelo, M.C.; Lima, P.F. 2005. Early identification of fetal sex and determination of the genital tubercle migration's day in dairy goats using ultrasound. *Acta Scientiae Veterinariae*, **32**, 353.
- Reichenbach, H-D.; Santos, M.H.B.; Oliveira, M.A.L.; Meinecke-Tillmann, S.; Bürstel, D-M., 2004. Sexagem fetal na cabra e na ovelha por ultra-sonografia. In: Santos, M.H.B.; Oliveira, M.A.L.; Lima, P.F. (Eds.) Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo: Varela, 2004. p.117-136.
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Guido, S.I., Bezerra, F.Q.G.B., Melo, A.N., Lima, P.F., Oliveira, M.A.L., 2006. Fetal sexing in Santa Inês ewes by ultrasonography. *Ciência Rural*, **36**, p.573-578.
- Santos, M.H.B.; Moraes, E.P.B.X.; Moura, R.T.D.; Chiamenti, A.; Bezerra, F.Q.G.; Aguiar Filho, C.R.; Lima, P.F.; Oliveira, M.A.L., 2005a Fetal sexing in goats by ultrasonography. *Acta Scientiae Veterinariae*, **32**, 354.

- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Moura, R.T.D., Lima, P.F., Reichenbach, H-D., Oliveira, M.A.L., 2005b. Early identification of the fetal sex in small ruminants by ultrasonography. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 131-134.
- Santos, M.H.B., Moraes, E.P.B.X., Rabelo, M.C., Melo, A.N., Lima, P.F. Oliveira, M.A.L., 2005c. Fetal sexing by ultrasonography in ewe of Santa Inês breed. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 247.
- Stroud, B.K., 1996. Using ultrasonography to determine bovine fetal sex. *Veterinary Medicine*, **91**, 663-672.
- Viana, J.H.M.; Viana, A.K.M.; Ferreira, A.M., 2000. Sexagem fetal por meio de ultrasonografia em receptoras inovuladas com embriões da raça holandesa. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. 2000. Viçosa. SBZ, 2000. v.37, p.186.

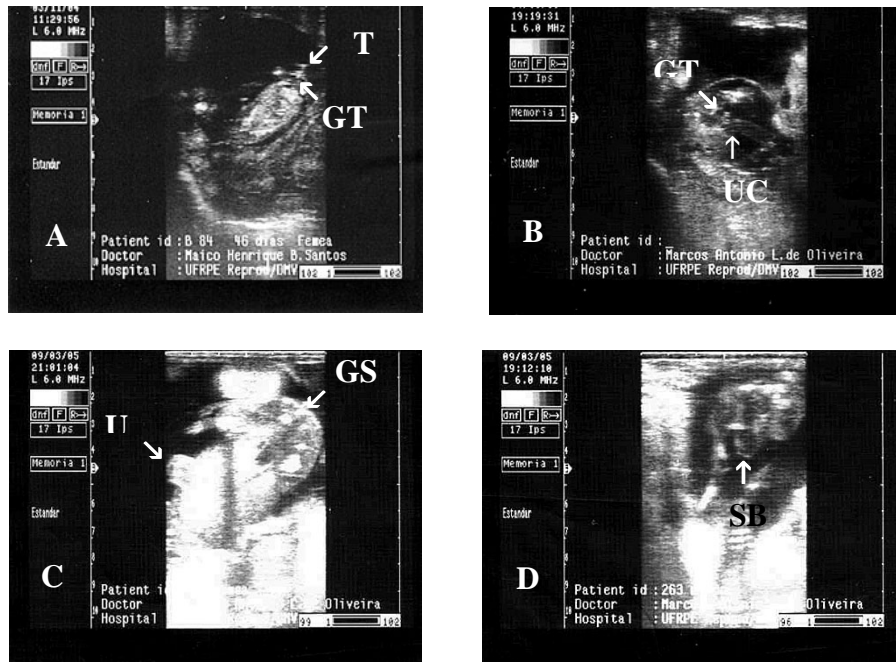


Figure 1 - Female fetuses (A and C) showing tail (T), genital tubercle (GT), umbilical cord (UC) and genital swelling (GS). Male fetuses (B and D) showing genital tubercle (GT), umbilical cord (UC) and scrotal bag (SB).

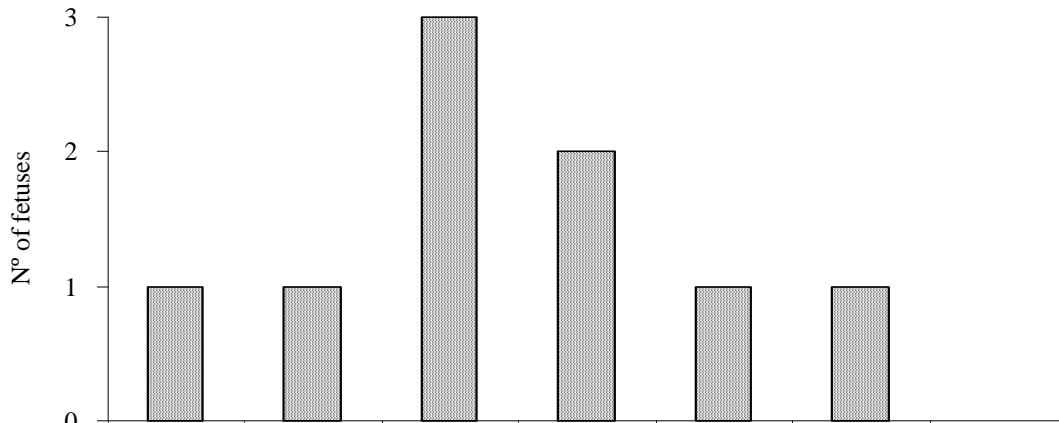


Figure 2 – Gestational day in which the sex of fetuses was determined take into the GT migration.

Table 1 - Fetal sex identification by daily examinations between Days 45 to 60 of pregnancy.

Pregnancy	Fetuses Correctly Sexed n	Fetuses not Quantified n	Fetuses Born n	Accuracy of Diagnosis n (%)
Single	6	-	6	6/6 (100.0)
Twin	3	1	4	3/4 (75.0)
Total	9	1	10	9/10 (90.0)

Table 2 - Fetal sex determination by single examinations between Days 45 to 70 of pregnancy.

Pregnancy	Fetuses Correctly Sexed n	Fetuses Incorrectly Sexed n	Fetuses not Sexed n	Fetuses Born n	Accuracy of Diagnosis n (%)
Single	5	2	-	7	5/7 (72.0)
Twin	8	-	2	10	8/10 (80.0)
Total	13	2	2	17	13/17 (76.4)

Table 3 - Fetal sex determination by single examinations between Days 100 to 120 of pregnancy.

Pregnancy	Fetuses Correctly Sexed n	Fetuses Incorrectly Sexed n	Fetuses Not Sexed n	Fetuses Born n	Accuracy of Diagnosis n (%)
Single	9	5	-	14	9/14 (64.3)
Twin	21	8	9	38	21/38 (55.3)
Total	30	13	9	52	30/52 (57.7)