

TECNOLOGIA DO SÊMEN RESFRIADO EM CAPRINOS +

THE TECHNOLOGY OF THE REFRIGERATED SEMEN OF BUCKS

NUNES, J.F.*

FELICIANO SILVA, A.E.D.**

UEPAE / SAO CARLOS
SID
SEPARATAS

RESUMO

Através de nove ejaculados provenientes de dois reprodutores da raça Anglo-Nubiana, uma vez por semana, estudou-se o resfriamento do sêmen a 4°C, suas características qualitativas e possibilidades do uso na inseminação artificial.

O resfriamento foi obtido, em média, em 2 horas e 15 minutos. À motilidade progressiva individual dos espermatozoides a 4°C foi de 3,5 ao início da incubação, caindo para 3,0 no final de seis horas. À porcentagem de espermatozoides vivos no mesmo período foi de 70%, atingindo 55% após seis horas de incubação.

As avaliações do sêmen resfriado foram feitas até 24 horas após.

Os resultados "in vitro" mostram que o sêmen pode ser utilizado até 12 horas após resfriado e incubado a 4°C não havendo comprometimento da qualidade do mesmo. Na avaliação diária observou-se o limite máximo de três a quatro dias da termo-resistência a 4°C estimando-se a porcentagem de espermatozoides vivos e a motilidade progressiva individual. À patologia espermática mostrou, todavia, níveis de alterações morfológicas que possibilitam a utilização do sêmen até 24 horas após o resfriamento.

O método do resfriamento do sêmen mostra um ótimo potencial para o uso do sêmen de animais em rebanhos situados a distâncias que, de preferência, não ultrapassem as 12 horas do resfriamento.

Termos de indexação: sêmen, inseminação artificial, caprinos, tecnologia do sêmen.

SUMMARY

Nine semen collections each were made on once weekly basis from two Anglo Nubian bucks, diluted in milk diluent with traces of antibiotics to finally give 400 million sperms/ml and stored at 4°C. The object was to study possibility of preserving spermatozoa for use in artificial insemination.

The mean cooling period, from room temperature to 4°C, was 2h15min. The progressive motility of individual spermatozoa in refrigerated semen was 3,5 in the beginning which came down to 3,0 after 6h. The percentage of live spermatozoa was 70 percent in the beginning and 55 percent at 6h of incubation.

Evaluation of the semen quality was doing until 24h after cooling.

The "in vitro" results showed that the semen may be used up to 12h after cooling and incubation at 4°C, without any substantial loss in semen quality. This particular observation is based on the daily evaluations of semen samples where the individual progressive motility and percentage of live spermatozoa was estimated till about 3 to 4 days. The pathological examinations of spermatozoa revealed that the maximum limit to which semen could be used was 24h after cooling. The method demonstrates its potencial utility for flocks situated at long distances where semen can be transported 12h after cooling.

Index Terms: semen, artificial insemination, goats semen technology.

PROCI-1984.00059

NUN

1984

SP-1984.00059

+ Aceito para publicação em junho de 1984
* Pesquisador III. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Alagoas — AL
** Pesquisador III. Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos/EMBRAPA

INTRODUÇÃO

A inseminação artificial caprina é um método bastante prático, global e de suma importância para incrementar o melhoramento genético do rebanho caprino brasileiro dentro de um curto espaço de tempo. Progressos excelentes nesse campo foram obtidos por CORTEEL (1983a), na França, trabalhando com caprinos leiteiros da raça Alpina, além de outros resultados promissores conseguidos na Ásia e Venezuela, respectivamente por BONGSO et alii (1982) e GONZALES-STAGNARO (1974). Através de um programa de inseminação artificial, a utilização do teste de progênie a nível de estação experimental e a nível de fazenda, possibilita a seleção de animais com verdadeiros recordes de produção leiteira, e produzindo algumas matrizes até 2.000 kg de leite em período de lactação de 270 dias (CORTEEL et alii, 1970). Vale salientar que esse melhoramento massal e eficaz do rebanho Alpino Francês deveu-se ao método de inseminação artificial, com sêmen congelado, onde se atingiu uma taxa de parição superior a 66% e prolificidade 2,3 crias por animal (CORTEEL et alii, 1970, 1983b; BONGSO et alii, 1982).

Taxas mais expressivas de 75% de fertilidade foram alcançadas por GONZALES-STAGNARO (1974) usando sêmen resfriado. O mesmo potencial tem sido mostrado por COLAS & GUERIN (1980) em ovinos.

Após o teste de progênie um pequeno número de reprodutores devidamente testados podem servir a uma grande área e um grande número de produtores. Como outra vantagem destaca-se o emprego do reprodutor através do seu sêmen congelado, mesmo após a sua morte, podendo-se assim perpetuar, difundir e melhor utilizar o potencial genético dos animais tidos como excelentes melhoradores.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dois machos caprinos da raça Anglo-Nubiana com idade média de dois anos, dos quais se coletaram

nove ejaculados através de vagina artificial, duas vezes semanalmente. Após coleta do esperma, foi determinado o volume (ml) e a concentração espermática. Para a determinação desse último parâmetro utilizou-se 0,05ml de esperma puro diluído em 10ml de solução salina formolizada a 0,1%. A leitura foi realizada através de espectrofotômetro, BAUSH & LOMB, modelo Spectronic 20. Paralelamente foi avaliada a motilidade massal, estimando-se o movimento das ondas e sua intensidade, atribuindo-se notas de zero a cinco. De acordo com a concentração espermática obtida e o volume, se processava a diluição com leite em pó descremado glicosado.

Após diluição numa concentração de 4×10^6 spz/ml foi incubado em tubos colocados em um becker de 600 ml, contendo 300 ml de água a temperatura ambiente. Em seguida o becker contendo os tubos foi transportado ao refrigerador assim permanecendo até a água atingir 14°C. Atingindo essa temperatura para o abaixamento até 4°C foi necessária a incubação do material no congelador. Alcançada a temperatura desejada de 4°C, foi adicionado gelo para a manutenção da mesma, reconduzindo o becker ao refrigerador.

Ao atingir-se a temperatura de 4°C foi iniciada a avaliação do sêmen através do teste de termoresistência, que consiste da estimativa da porcentagem de espermatozóides móveis e na motilidade progressiva individual (COLAS, 1980), utilizando-se microscópio marca Leitz com platina aquecedora para manutenção a 37°C. As estimativas foram processadas a cada hora por um intervalo de 25 horas. Algumas avaliações foram realizadas até a completa morte dos espermatozóides.

A patologia espermática foi determinada quando o sêmen atingiu 4°C no final das 25 horas, momento da última avaliação, utilizando para a coloração uma solução à base de eosina a 1%, nigrosina a 3% e citrato de sódio a 3%. Para avaliação das anomalias espermáticas, cerca de 150 células eram observadas verificando-se as seguintes alterações morfológicas: cabeça

anormal (CA), cabeça sem flagelo (CSF), gota citoplasmática proximal (GCP), gota citoplasmática distal (GCD) e anomalia de flagelo (AF) (COLAS, 1980).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o abaixamento da temperatura do sêmen nas condições ambientais até 4°C alguns fatores importantes devem ser observados. O volume da água no becker onde se introduzirão os tubos de sêmen deve ser tal que o tempo médio necessário para que o material atinja os 14°C, seja em média de uma hora a 30 minutos e ainda uma permanência do material no congelador de cerca de 45 minutos para a temperatura baixar dos 14°C aos 4°C. Alcançados os 4°C se faz necessário o adicionamento de gelo para manutenção da temperatura desejada, entre 4-6°C. Os resultados obtidos estão de acordo com os de GONZALES-STAGNARO (1974) que resfriou o sêmen num intervalo de 45-60 minutos.

Na motilidade progressiva individual durante as quatro primeiras horas de incubação, os espermatozóides começam a perder um pouco o valor da mesma passando de 3,5 para aproximadamente 3,0 (GRAF. 1).

No que se refere à porcentagem de espermatozóides vivos, no início da incubação a 4°C, este valor é de aproximadamente 70%. A partir da primeira hora de incubação decresce para 65% e continua a diminuir até o final das seis horas quando existem aproximadamente 55% de espermatozóides vivos (GRAF. 2).

Estes resultados iniciais permitem visualizar o emprego do sêmen refrigerado por um período de 12 horas, já que durante as seis primeiras horas o sêmen mostra excelentes características de avaliação

“in vitro”. Admitindo-se que a fertilidade do sêmen começa a ser comprometida quando este apresenta menos de 30% de espermatozóides vivos e uma motilidade a 2,5 (CORTEEL, 1968). Já GONZALES-STAGNARO (1975), utilizou o sêmen resfriado a 4-6°C durante um período de 6-12 horas, alcançando 75% de fertilidade. Em ovinos, COLAS & GUERIN (1980) comprovam a eficiência do resfriamento do sêmen, usando-o após 24 horas de resfriado obtendo 51% de fertilidade. A avaliação diária do sêmen, por um período de seis dias evidenciou que próximo aos três dias a porcentagem de espermatozóides vivos está no limite mínimo de utilização (GRAF. 3). A motilidade só atinge o seu valor mínimo de utilização em torno dos quatro dias (GRAF. 4).

No que se refere à patologia espermática observou-se que as alterações espermáticas nas primeiras 24 horas se situam em torno do limite máximo de utilização que é de 15%, sendo este valor o máximo permitido no sêmen dos caprinos (ARBEITER, 1964). O incremento desses defeitos é bastante acentuado nas primeiras 48 horas, não havendo pois muitas chances de utilização do sêmen após este período; isto se deve ao alto índice de alterações morfológicas dos espermatozóides vivos (GRAF. 5). Sabe-se todavia, que existe em ovinos da raça Ile de France uma correlação altamente positiva ($r = 0,90$) entre os defeitos espermáticos totais e fertilidade (COLAS, 1981).

Acredita-se que em caprino essa correlação também seja importante, o que restringe o emprego do sêmen refrigerado após as 24 horas iniciais (TAB. I). É todavia possível melhorar-se a qualidade do sêmen através de um controle de temperatura e sem trocas bruscas da mesma, o que provoca a diminuição da motilidade, da porcentagem de vivos com conseqüente aumento das anomalias espermáticas.

TABELA I — Anomalias espermáticas (%) do sêmen de caprinos, resfriado e incubado a 4°C, nas primeiras 24 horas.

Horas	PORCENTAGEM DE ANOMALIAS					Total
	CA	CSF	GCP	GCD	AF	
0 h	0,2	2,16	0,2	0,24	8,6	11,7
12 hs	0,16	1,8	0,4	0,12	11,0	13,4
24 hs	1,6	4,28	0,53	0,4	13,6	20,4

CA = Anomalia da cabeça
 CSF = Cabeça sem flagelo
 GCP = Gota citoplasmática proximal
 GCD = Gota Citoplasmática distal
 AF = Anomalia de flagelo
 n = ejaculados

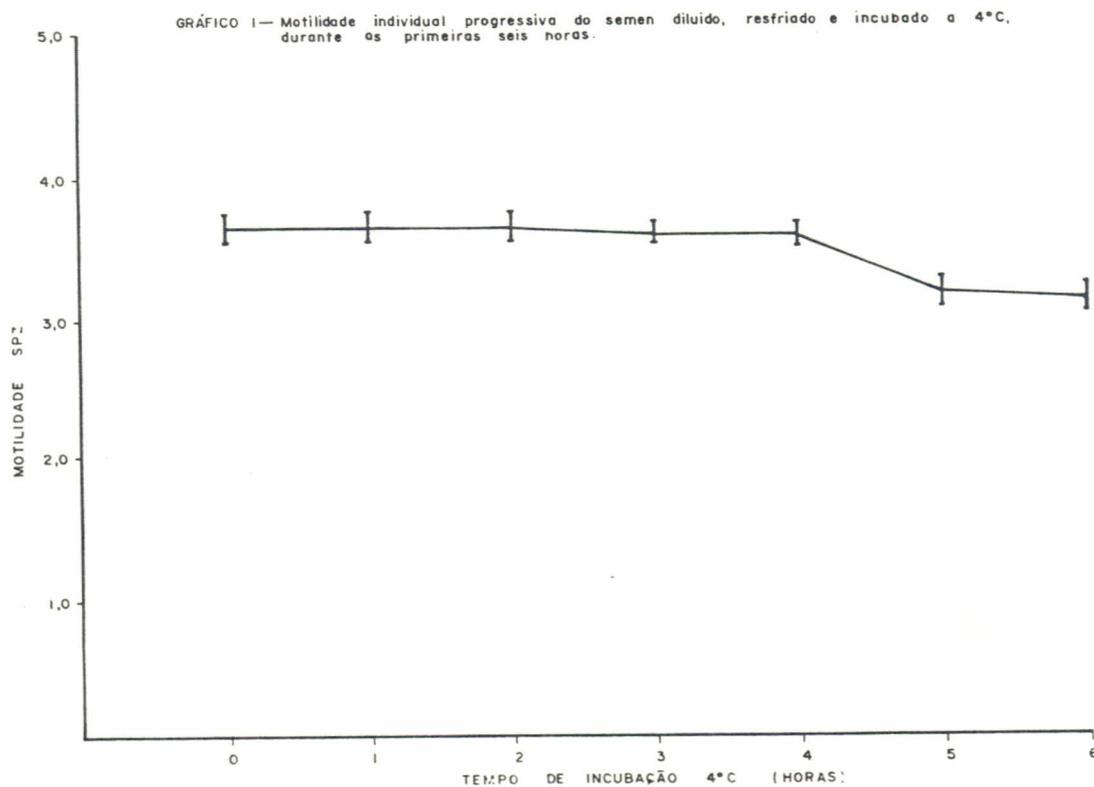


GRÁFICO 2 — Porcentagem de espermatozóides (SPZ) vivos, no semen de caprino diluído em leite, resfriado e incubado a 4°C durante as primeiras seis horas.

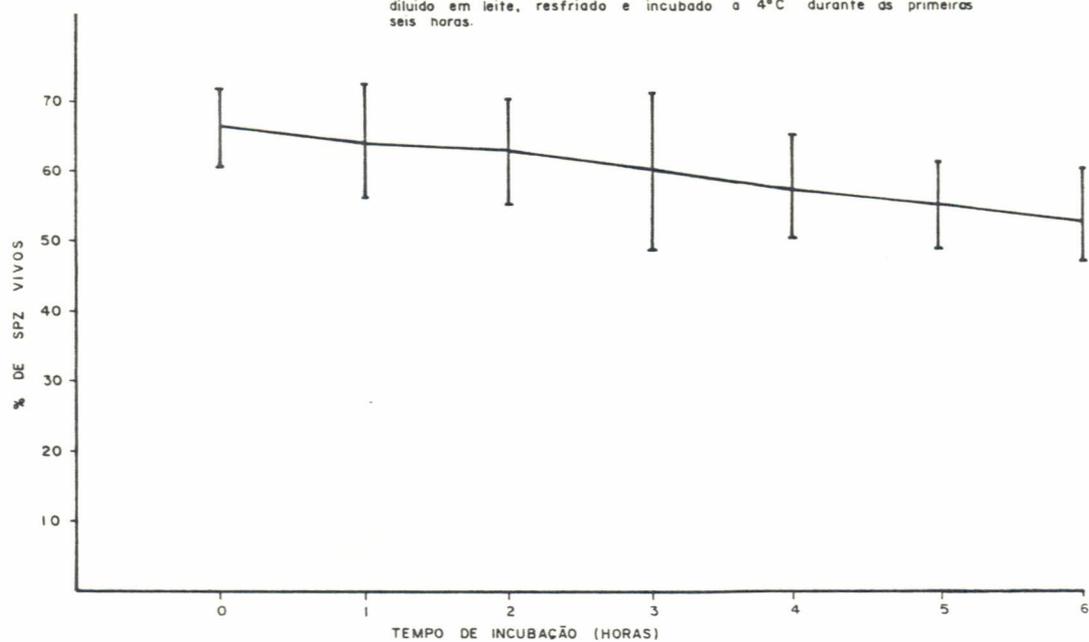


GRÁFICO 3 — Porcentagem de espermatozóides (SPZ) vivos, no semen de caprino diluído em leite, resfriado e incubado a 4°C, durante os primeiros seis dias.

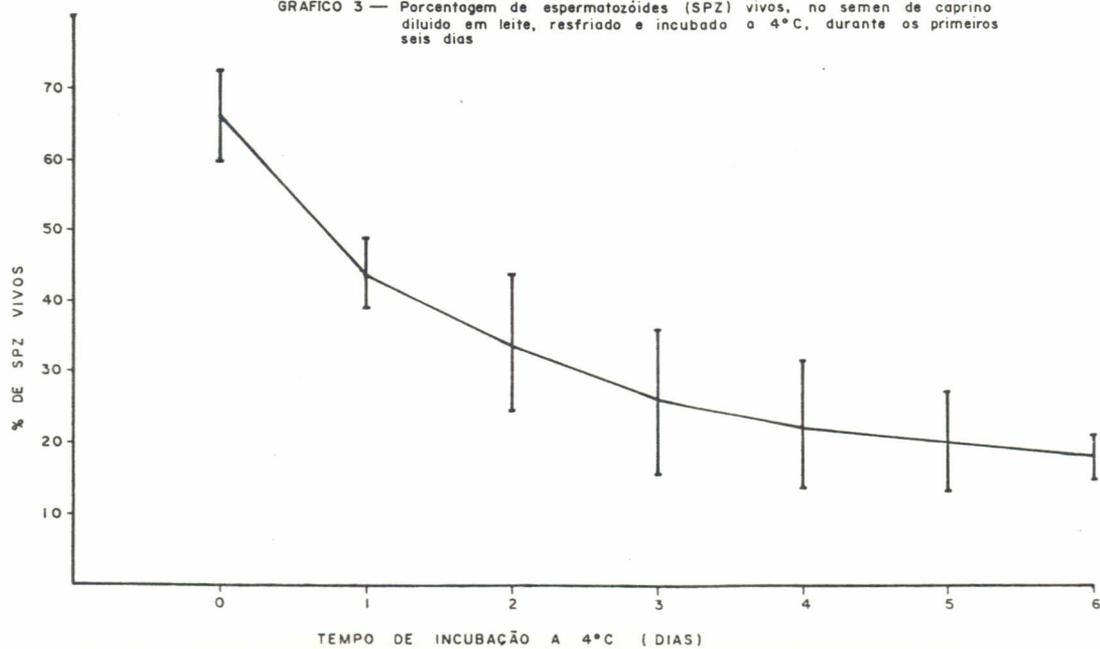


GRÁFICO 4 — Motilidade individual progressiva de espermatozoides (SPZ) de semen de caprino diluído em leite resfriado e incubado a 4°C, durante os primeiros seis dias

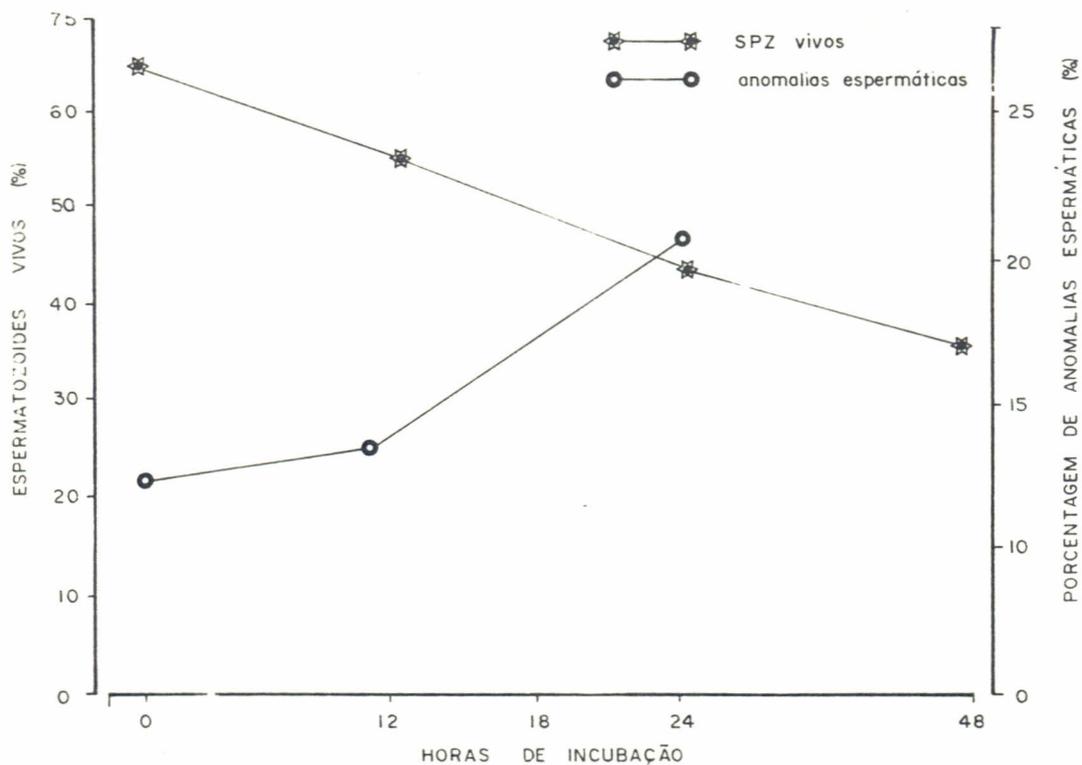
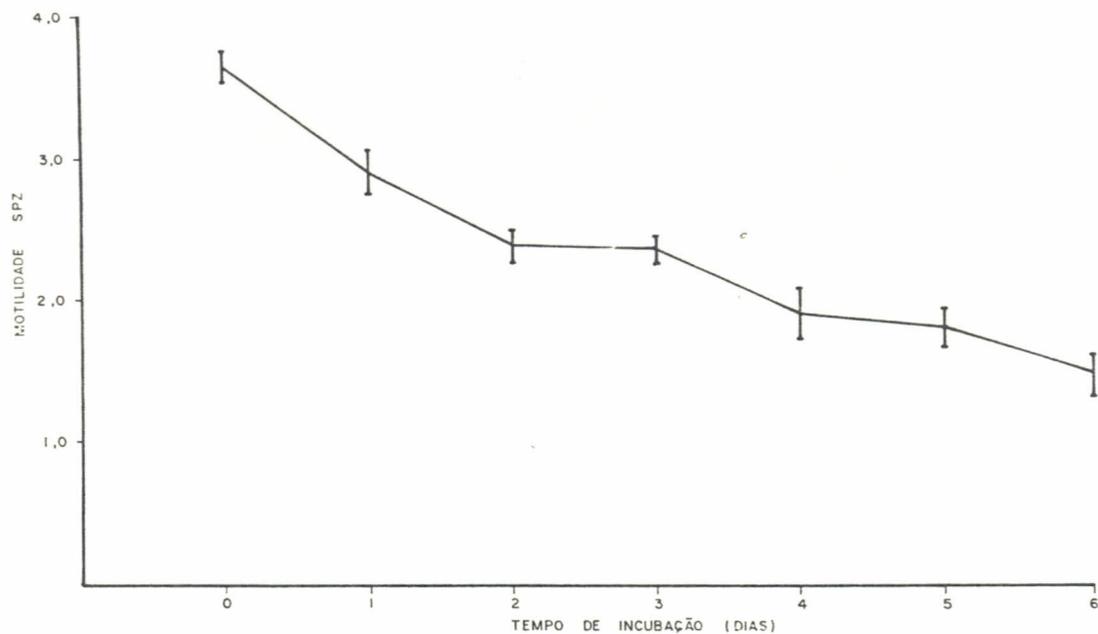


GRÁFICO 5 — Porcentagem de SPZ vivos e anomalias espermáticas em semen de caprinos resfriado e incubado a 4°C, nas primeiras 48 horas.

CONCLUSÃO

O método de resfriamento do sêmen caprino abre uma perspectiva no uso da inseminação artificial e na utilização do sêmen de reprodutores de alto potencial genético, tanto para o melhoramento da caprinocultura de corte como principalmente da leiteira.

A aplicação desta técnica, válida num período de 10-12 horas, possibilita o transporte desse sêmen a longas distâncias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARBEITER, E. Beitrag sur Spermienmorphologie der Ziegenböcke. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*; **71** : 60-2, 1964.
- BONGSO, T.A.; FATIMAH; DASS, S. Synchronisation of oestrus of goats treated with progestagen impregnated intravaginal sponges and PMSG, and reproductive performance following natural mating or A.I. with frozen semen. *Anim. Reprod. Sci.* **5** : 111-6, 1982.
- COLAS, G. Variation saisonnières de la qualité du sperme chez le belier Ile de France. 1. Étude de la motilité massale. *Reprod. Nutr. Dev.* **20** : 1789-99, 1980.
- COLAS, G. Variations saisonnières de la qualité du sperme chez le belier Ile de France. 2. Fécondance: relation avec les critères qualitatifs observés in vitro. *Reprod. Nutr. Dev.* **21** : 399-407, 1981.
- COLAS, G. & GUERIN, Y. L'insemination artificielle chez les ovins: acquisitions et perspectives. In: JOURNÉES DE LA RECHERCHE OVINE ET CAPRINE, 5. Paris, 1980. Amélioration génétiques des espèces ovine et caprine, Paris, INRA/ITOVIC, 1980. p. 162-84.
- CORTEEL, J.M. La reproduction de l'espèce caprine. *La Chèvre*, (n. spécial): 1-24, 1968.
- CORTEEL, J.M.; BARIL, G.; LEBOEUF, B. La mise en place de la semence dans les voles génitales de la chèvre: source de variation possible de la fertilité après insemination artificielle caprine, *Bull. Tech. Ins. Art.*, **27** : 9-15, 1983a.
- CORTEEL, J.M.; BARIL, G.; LEBOEUF, B. Un nouveau traitement hormonal pour induire l'oestrus et l'ovulation chez la chèvre laitière en dehors de la saison sexuelle. *Bull. Tech. Ins. Art.*, **27** : 16-9, 1983b.
- CORTEEL, J.M.; BARITEAU, F.; SOUSSTERE, J. Vers une reproduction programmée des caprines en France. *La Chèvre*, **63** : 1, 1970.
- GONZALES-STAGNARO, C. Control hormonal del ciclo estral en cabras criollas 2. Inseminación artificial y reproducción programada. *Vet. Zoot.* **26** : 25-55, 1974.
- GONZALES-STAGNARO, C. Inseminación artificial en cabras con semen congelado. *Zootecnia*, **24** : 151-63, 1973.