

→ **Produção de sêmen congelado de caprino de raças exóticas em Sobral, Ceará**
(Production of frozen goat semen of exotic breeds in Sobral, Ceara)

Simplício^{1,*}, A.A.; Santos¹, D.O.; Machado², Mello¹, R.; A.A.

¹Embrapa Caprinos, Sobral, CE; ²Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos SP



RESUMO

Na Embrapa Caprinos, de janeiro de 1996 a dezembro de 1998, 29 bodes, 12 da raça Anglo-nubiana, nove Pardo Alpina e oito Saanen, numa faixa etária de 18 a 72 meses, foram submetidos à colheita de sêmen em vagina artificial nas épocas chuvosa, chuvosa-seca, seca e seca-chuvosa objetivando a congelação. Os animais eram confinados recebendo ração concentrada à base de milho triturado, farelo de soja, cloreto de sódio e fosfato bicálcico na proporção de 74,0%, 22,0%, 3,0% e 1,0%, respectivamente, e como volumoso silagem de milho ou sorgo, capim elefante picado e feno de rebrota de leucena. Foram colhidos 292 ejaculados, destes 229 (78,4%) foram submetidos à lavagem com solução *Kreb's Ringer Fosfato* modificada mediante duas centrifugações a 1.400 G, durante 10 minutos. Apenas ejaculados com valores mínimos para volume (ml), concentração ($\times 10^9$ spz/ml), motilidade individual progressiva (MIP, %) e vigor (0-5) de 0,3; 1,0; 60,0 e 3,0, respectivamente foram processados. Foram produzidas 3324 doses das quais 1916 (57,6%) foram aprovadas para uso. Os dados foram submetidos ao Chi-quadrado em comparações binárias pela elaboração de contingência 2 x 2, em nível de significância de 5%, considerando raça, época e raça dentro de época. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre as raças para o número de ejaculados processáveis. Todavia, a raça Pardo Alpina foi superior ($P < 0,05$) quanto ao número de doses congeladas/aprovadas seguida pela Anglo-nubiana e Saanen, nessa ordem. Dentro de épocas a Pardo Alpina foi superior ($P < 0,05$) as demais exceto, na época seca onde a Anglo-nubiana mostrou melhor desempenho. As épocas chuvosa e seca apresentaram o maior ($P < 0,05$) número de ejaculados processáveis, contudo, as épocas chuvosa e chuvosa-seca foram semelhantes e superiores as outras duas no número de doses congeladas/aprovadas. Em geral, os bodes liberaram sêmen compatível com a criopreservação ao longo das quatro épocas do ano entretanto, não se recomenda a criopreservação de sêmen durante a época de seca-chuvosa, devido ao baixo rendimento no número de doses aprovadas.

PALAVRAS-CHAVE: Caprino; sêmen; congelação

SUMMARY

In the Brazilian Agricultural Research Agency at National Goat Research Center from January 1996 to December 1998, 29 bucks being 12 Anglo Nubian, 9 Brown Alpine and 8 Saanen, at age from 18 to 72 months, were submitted to semen collection in artificial vagina during four seasons: wet, wet to dry, dry and dry to wet with objective to freezing. The animals were maintained in confinement during all period receiving one concentrate mixture of cornmeal, soybean meal, sodium chloride and bicalcium phosphate in proportion of 74,0%, 22,0%, 3,0% and 1,0% and corn or sorghum silage, chopped green elephant grass and leucaena hay. Were collected 229 ejaculates, these 229 (78,4%) were submitted to washing in modified *Kreb's Ringer Phosphate* solution, throughout two centrifugation at 1.400 G, during ten minutes. Only ejaculates with minimum valorous to volume (ml), concentration ($\times 10^9$ spz/ml), progressive individual motility (MIP, %) and vigor (0 - 5) of 0,3; 1,0; 60,0 and 3,0, respectively, were processing to freezing. Were frozen 3324 doses and theses 1916 (57,6%) were approved to use. Data were analyzed by X-square in binary comparisons by 2 x 2 contingency table at 5% significance, considering breed, season and breed into season. No statistics difference ($P > 0,05$) was observed among breeds to processable ejaculates. However, the Brown Alpine breed was superior ($P < 0,05$) to number of frozen/approved doses following by Anglo Nubian and Saanen, in this order. Into sea-

sons, the Brown Alpine breed was superior ($P < 0,05$) to other two breeds except to dry season where Anglo Nubian shown great performance. The wet and dry seasons shown the great ($P < 0,05$) number of processable ejaculates however, the wet and wet to dry seasons were similar but superior to other two in the number of frozen/approved doses. In general, the bucks liberated semen compatible with cryopreservation during all seasons of year however, is not recommended cryopreservation bucks semen in Northeast Brasil during dry to wet season due to low production of semen approved doses.
KEY WORDS: goat; semen; frozen.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o reduzido número de Centrais de Inseminação Artificial especializadas no processamento para congelação do sêmen caprino, associado à falta de machos testados e de organização para a comercialização do produto limitam a produção e, conseqüentemente, a implementação da inseminação artificial como técnica de manejo reprodutivo em nível de propriedade (Machado & Simplício 1995, Machado et al. 1997). O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de sêmen caprino congelado e a eficácia da metodologia de congelação através da congelabilidade do ejaculado.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na Central de Inseminação Artificial da Embrapa Caprinos, em Sobral, Ceará, de Janeiro/1996 a dezembro/1998. O ano foi dividido em quatro épocas: época chuvosa, fevereiro a maio; de transição chuvosa-seca, junho e julho; seca, agosto a novembro e seca-chuvosa, dezembro e janeiro. Foram utilizados como doadores de sêmen 29 bodes, sendo 12 da raça Anglo-nubiana, nove Pardo Alpina e oito Saanen, numa faixa etária de 18 a 72 meses. Os animais eram mantidos em regime de confinamento, recebendo, no cocho, ração concentrada à base de milho triturado, farelo de soja, cloreto de sódio e fosfato bicálcico, na proporção de 74,0%, 22,0%, 3,0% e 1,0%, respectivamente, e como volumoso silagem de milho ou sorgo, capim elefante picado e feno de rebrota de leucena (*Leucaena leucocephala*) com 28 a 42 dias de intervalo entre cortes. No segundo semestre de 1998 os animais passaram a receber, também, uma porção de concentrado comercial. A ração concentrada diária era dividida em duas partes iguais e oferecida pela manhã e a tarde. O sêmen foi colhido em vagina artificial e, somente aqueles ejaculados com valores mínimos para volume (ml), concentração ($\times 10^9$ spz/ml), motilidade individual progressiva (MIP, %) e vigor (1 a 5) de 0,3; 1,0; 60,0 e 3,0, respectivamente, foram submetidos à lavagem com solução *Kreb's Ringer Fosfato* modificada por Machado & Simplício (1992), na proporção de 9:1 (solução:sêmen), mediante duas centrifugações a 1.400 G, durante 10 minutos cada uma delas. Apenas os ejaculados que após a lavagem não se apresentaram aderidos ao fundo do tubo foram submetidos ao resfriamento, envase em palheta de 0,5 ml, tipo francesa, contendo 150×10^6 espermatozoides viáveis e subseqüente congelação, de acordo com o protocolo de processamento de sêmen para congelação descrito por Machado & Simplício (1992) e criopreservado em nitrogênio líquido por, pelo menos, sete dias antes da avaliação. Uma dose de sêmen, por partida, foi descongelada em banho-maria a 37 °C por 20 segundos e avaliada cinco minutos após. Somente partidas com valores mínimos de 30,0 e 2,0 para MIP e vigor, respectivamente, foram aprovadas para uso na Unidade ou comercialização. Os dados foram tomados em proporções após feita a correção de continuidade de Yates (Gomes, 1977) e submetidos à análise estatística não paramétrica através do teste de Chi-quadrado (Minium & Clarke, 1982) em comparações binárias pela elaboração de contingência 2 x 2, em nível de significância de 5%, considerando os efeitos principais raça, época e raça dentro de época.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de ejaculados colhidos, submetidos à lavagem e à congelação; por época e raça e, de doses congeladas/descongeladas e apro-

vadas para uso, durante os três anos encontram-se na Tabela 1. Do total de 292 ejaculados colhidos, 229 (78,4%) foram processados para congelamento sendo produzidas 3324 doses de sêmen congeladas, das quais 1916 (57,6%) foram aprovadas para uso. Enquanto, 107 e 83 (77,6%); 79 e 61 (77,2%); 106 e 85 (80,2%) são ejaculados colhidos e processados para a raça Anglo-nubiana, Pardo Alpina e Saanen, nessa ordem não tendo sido observada diferença significativa ($P>0,05$) entre raças para ejaculados processados. Contudo, o número de doses de sêmen produzidas e aprovadas para uso foram de 1329 e 841 (63,3%) para a raça Anglo-nubiana; 757 e 544 (71,9%) para a Pardo Alpina; 1238 e 531 (42,9%) para a Saanen. A raça Pardo Alpina foi superior a Anglo-nubiana ($P<0,01$) e a Saanen ($P<0,01$) enquanto a Anglo-nubiana foi superior à Saanen ($P<0,01$). Acredita-se que o fato dos machos das três raças terem sido mantidos em regime de manejo intensivo, as melhorias nas condições ambientais tenham permitido a raça Pardo Alpina expressar melhor o seu potencial de adaptação às condições tropicais, fato este não observado na raça Saanen. Considerando as três raças Anglo-nubiana, Pardo Alpina e Saanen, nessa ordem, dentro das épocas do ano, o número de doses produzidas e aprovadas para uso foram, na chuvosa de 507, 319 (62,9%); 345, 275 (79,7%) e 463, 231 (49,9%) ($P<0,05$); na chuvosa-seca de 173, 106 (61,3%); 38, 38 (100,0%) e 93, 33 (35,5%) ($P<0,05$); na seca de 516, 369 (71,5%); 358, 215 (60,1%) e 635, 267 (42,0%) ($P<0,05$) e na seca-chuvosa de 133, 47 (35,3%); 16, 16 (100,0%) e 47, zero (0,0%) ($P<0,05$). Ressalta-se que em todas as épocas a raça Saanen mostrou-se inferior ($P<0,05$) em relação as outras duas

quanto ao número de doses de sêmen produzidas/aprovadas para uso enquanto, a Pardo Alpina foi superior ($P<0,05$) a Anglo-nubiana, no tocante ao mesmo parâmetro, em todas as épocas, exceto, na época seca. Este fato, possivelmente, ressalta a melhor adaptação desta raça às condições de meio ambiente no tocante à temperatura e umidade relativa do ar em relação à Pardo Alpina e a Saanen que tiveram rendimento inferior, nessa ordem e que são, provavelmente, mais sensíveis à temperatura ambiente e umidade relativa do ar elevadas. Na mesma ordem de raça o número de ejaculados colhidos/processados na época seca-chuvosa foi superior ($P<0,05$) para a raça Anglo-nubiana em relação as outras duas, não havendo diferença estatística ($P>0,05$) entre a Pardo Alpina e a Saanen.

Independente de raça os percentuais de doses aprovadas para uso foram: 62,7; 58,2; 56,0 e 32,1 para as épocas chuvosa, chuvosa-seca, seca e seca-chuvosa, nessa ordem. A época chuvosa não diferiu da chuvosa-seca ($P>0,05$) mas foi superior ($P<0,05$) à seca e à seca-chuvosa. A época chuvosa-seca não diferiu da seca ($P>0,05$) enquanto, a seca-chuvosa diferiu das demais ($P<0,05$) enfatizando o efeito prejudicial da alta temperatura ambiente quando associada à umidade relativa do ar elevada sobre a qualidade e a congelabilidade do sêmen.

CONCLUSÃO

Machos caprinos de raças exóticas liberam sêmen em vagina artificial, quanti-qualitativamente compatível com a criopreservação e uso durante as épocas chuvosa, chuvosa-seca e seca.

Não se recomenda a criopreservação de sêmen durante a época de transição seca-chuvosa.

Tabela 1- Número (N) e porcentagem (%) de ejaculados colhidos e processados e de doses de sêmen produzidas e aprovadas, distribuído por raça, na Central de Inseminação Artificial da Embrapa Caprinos, em Sobral, Ceará.

Raça	Número de ejaculado			Número de dose		
	COLHIDO	Processado	%	Congelada	Aprovada	%
Anglo-nubiana	107	83	77,6 ^a	1329	841	63,3 ^b
Pardo Alpina	79	61	77,2 ^a	575	544	71,9 ^a
Saanen	106	85	80,2 ^a	1238	531	42,9 ^c
Total	292	229	78,4	3324	1916	57,6

Valores seguidos de letras diferentes dentro de coluna são estatisticamente distintos ($P<0,05$).

Tabela 2 - Número (N) e porcentagem (%) de ejaculados colhidos e processados e de doses de sêmen produzidas e aprovadas, por época e raça, na Central de Inseminação Artificial da Embrapa Caprinos, em Sobral, Ceará.

Época	Raça	Número de ejaculado			Número de dose		
		COLHIDO	Processado	%	Congelada	Aprovada	%
Chuvosa	AN	44	33	75,0 ^a	507	319	62,9 ^b
	PA	37	30	81,1 ^a	345	275	79,7 ^a
	SA	40	34	85,0 ^a	463	231	49,9 ^c
	Total	121	97	80,2 ^{pq}	1315	825	62,7 ^s
Chuvosa-seca	AN	17	10	58,8 ^a	173	106	61,3 ^b
	PA	09	05	55,6 ^a	38	38	100,0 ^a
	SA	14	08	57,1 ^a	93	33	35,5 ^c
	Total	40	23	57,5 ^f	304	177	58,2 ^{sv}
Seca	AN	36	31	86,1 ^a	516	369	71,5 ^a
	PA	29	25	86,2 ^a	358	215	60,1 ^b
	SA	46	41	89,1 ^a	635	267	42,0 ^c
	Total	111	97	87,4 ^p	1509	851	56,0 ^{iv}
Seca-chuvosa	AN	10	09	90,0 ^a	133	47	35,3 ^b
	PA	04	01	25,0 ^b	16	16	100,0 ^a
	SA	06	02	33,0 ^b	47	0	0,0 ^c
	Total	20	12	60,0 ^{qr}	196	63	32,1 ^u
Total	Geral	292	229	78,4	3324	1916	57,6

^{abc} Valores na mesma coluna, dentro de época, seguidos de letras diferentes são estatisticamente distintos ($P<0,05$).

^{pqrstuv} Valores na mesma coluna, entre de época, seguidos de letras diferentes são estatisticamente distintos ($P<0,05$).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GOMES, F.P. Curso de estatística experimental, 7 ed. São Paulo: Nobel, 1977. 460p.
- MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Effects of two washing solutions on sperm survival of bucks. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS, 5, 1992. Proceedings. New Delhi: Indian Council of Agricultural Research, 1992. p.1089-1094.
- MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Inseminação artificial em caprinos no Brasil: estágio atual. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.19, n.1/2, p.61-72, 1995.
- MACHADO, R.; ZAGATTO, L.C.A.G.; AZEVEDO, H.C.; SIMPLÍCIO, A.A. Viabilidade econômica da inseminação artificial em caprinos. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, v.35, n.3, p.141-149, 1997.
- MINIUM, E.W.; CLARKE, R.B. Elements of statistical reasoning. New York: John Wiley, 1982. 466p.

Avaliação do sêmen ovino (*ovis aries*) congelado em palhetas e "pellets" com diferentes meios diluidores.

(Evaluation of ram semen (*ovis aries*) cryopreserved in straws and pellets with different extenders mediums)

Gonzalez*, C.I.M.¹, Oba, E.², Bicudo, S.D.³

¹Médica veterinária - Pesquisadora da Empresa Estadual Agropecuária da Paraíba- EMEPA - Pb

²Professor Titular da Universidade Estadual de São Paulo - campus de Botucatu

³Professor Adjunto da Universidade Estadual de São Paulo - campus de Botucatu

RESUMO

Este trabalho teve por objetivos testar diferentes meios diluidores e métodos de congelamento na sobrevivência espermática de cinco carneiros da raça Ideal e avaliação da taxa de prenhez, após a inseminação através de laparoscopia. O total de 90 amostras de sêmen foi processado em diferentes tratamentos, isto é, diluídas nos meios Glicina-Gema congeladas em palhetas (T1), Glicina-Gema-Leite congeladas em palhetas (T2) e Tris-Glicose-Ácido Cítrico congeladas em "pellets" (T3). Em seguida, foram submetidas a 90 minutos de equilíbrio em geladeira a 5°C e após este período foram congeladas, segundo a metodologia de cada tratamento. Transcorridos três meses de armazenamento das amostras congeladas em N₂(l), estas foram descongeladas para a avaliação da motilidade progressiva. As médias obtidas foram 49,00; 60,10 e 51,70%, respectivamente para os tratamentos 1, 2 e 3. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os mesmos. Para avaliação da fertilidade, 148 fêmeas foram divididas em três grupos experimentais e inseminadas com o sêmen diluído, congelado e descongelado nos meios Glicina-Gema-Leite-palhetas (G1), Glicina-Gema-palhetas (G2) e Tris-Glicose-Ácido Cítrico-"pellets" (G3). Os resultados de prenhez foram 74,0; 64,0 e 75,0%, respectivamente para os grupos 1, 2 e 3. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre eles.

PALAVRAS-CHAVE: carneiro, congelamento de sêmen, inseminação por laparoscopia.

SUMMARY

The objective of this work was to evaluate different extenders mediums and cryopreservation of pattern in survival of spermatic cells of the five Ideal race rams and pregnancy rate after laparoscopic insemination. The total of 90 samples of semen was processed in different treatments diluted in extenders Glycine-egg yolk-frozen in straws (T1), Glycine-egg yolk-milk-frozen in straws (T2) and Tris-glycose-citric acid-frozen in pellets (T3). Afterwards samples were submitted to 90 minutes of equilibrium at 5°C and then frozen according to each treatment methodology. Following three months of storage of the samples frozen in N₂(l), these were thawed. The mean were 49,00; 60,10 and 51,70%, respectively for the treatments 1, 2 and 3. There were no significant difference among them ($p > 0,05$). For fertility evaluation, 148 sheeps were divided in three experimental groups and were inseminated by laparoscopic with semen frozen in Glycine-egg yolk-milk-straws (G1), Glycine-egg yolk-straws (G2) and Tris-glycose-citric acid-pellets (G3). Pregnancy results were 74,0; 64,0 and 75,0%, respectively for groups 1, 2 and 3. There was no significant difference ($p > 0,05$) among them.

KEY WORDS: ram, frozen semen, insemination by laparoscopic

pic.

INTRODUÇÃO

A rápida multiplicação de indivíduos portadores de características zootécnicas e genéticas desejáveis constitui-se num dos fatores de maior relevância para o aumento da produtividade de um rebanho (NEVES, 1990). A inseminação artificial (IA) é uma biotecnologia que permite a realização deste objetivo, em decorrência da possibilidade do uso de sêmen congelado de reprodutores selecionados e utilização de programas estratégicos de IA, visando o atendimento das necessidades mercadológicas.

Em contrapartida, desde as observações iniciais da criopreservação de sêmen nos mamíferos, tem sido demonstrado que, somente uma pequena população de espermatozoides apresenta-se biologicamente viável seguido este processo. As trocas das fases térmicas envolvidas na congelamento e descongelamento de sêmen, inevitavelmente reduzem a motilidade e causam alterações ultraestruturais, bioquímicas e funcionais na célula espermática (Salamon & Maxwell, 1995a). Desta forma, a aditivção de novos compostos aos meios diluidores tem sido estudada no sentido de preservar a integridade do gameta sexual masculino, aumentando a sua viabilidade funcional (Maxwell & Watson, 1996).

Fundamentando-se nestes conhecimentos este trabalho teve por objetivo testar novos meios diluidores para a criopreservação do sêmen ovino, baseando-se na fórmula original do diluente Glicina-Gema confeccionado para a espécie bovina por Papa et al. (1993).

MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo dos meios diluidores na congelamento do sêmen ovino, foram utilizados cinco carneiros da raça Ideal com idade de dois anos e apresentando condições favoráveis de saúde. Durante o experimento, os animais foram mantidos em regime semi-extensivo, sendo colocados para pastejo a campo nos horários compreendidos entre 7 e 17 horas. Seguido este período, eram colocados em baias individuais em instalações de madeira com piso ripado e recebiam concentrado, sal mineral e água ad libitum. A colheita de sêmen foi realizada com vagina artificial de confecção própria, duas vezes por semana, até o final do experimento. Em seguida à obtenção dos ejaculados e sua avaliação quanto ao volume, motilidade progressiva (mínima de 50%) e vigor (mínimo de grau 3), estes eram diluídos e submetidos ao resfriamento em geladeira a 5°C, por um período de 90 minutos. As amostras de sêmen que foram envasadas em palhetas, eram resfriadas dentro de um invólucro plástico insuflado com ar nos primeiros 30 minutos do período de equilíbrio, quando então estes foram abertos e seguiu-se desta maneira até o término do processo. A curva de redução da temperatura de resfria-