



## EFEITO DA CONCENTRAÇÃO ESPERMÁTICA SOBRE SÊMEN CONGELADO DE CARNEIROS DA RAÇA SANTA INÊS<sup>1</sup>

Fátima Révia Granja Lima<sup>2</sup>, Airton Alencar de Araujo<sup>3</sup>, Diônes Oliveira Santos<sup>4</sup>, Olivardo Facó<sup>4</sup>, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda<sup>2</sup>, Ítalo Cordeiro Silva Lima<sup>5</sup>, Marco Antonio Basílio Linard<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor.

<sup>2</sup>Doutoranda em Zootecnia – PDZ/UFC. Bolsista da FUNCAP. E-mail: reviangranja@yahoo.com.br (autor para correspondência)

<sup>3</sup>Professor do Programa de Pós-graduação em Zootecnia - UFC;

<sup>4</sup>Pesquisador da Embrapa Caprino - CNPC;

<sup>5</sup>Estudante de Graduação em Zootecnia – UFC;

**Resumo:** objetivou-se verificar o efeito da concentração final dos espermatozóide de ovinos sobre os parâmetros de motilidade do sêmen congelado. Foram coletados seis ejaculados de cinco carneiros Santa Inês, uma vez por semana feito um pool e avaliado o volume, motilidade, vigor, concentração espermática e, fracionado em três alíquotas para testar diluições diferentes ( $1000 \times 10^6$ ,  $800 \times 10^6$ ,  $600 \times 10^6$  espermatozóides por mL). As amostras foram envasadas em palhetas de 0,25 mL, congeladas no equipamento TK 3000 e conservadas no botijão criogênico. Decorridos 30 dias foram descongeladas e, o sêmen avaliado pelo método CASA. Procedeu-se a ANOVA para testar o resultado da concentração de espermatozóides sobre os parâmetros de motilidade. A concentração de  $600 \times 10^6$  spztz/ mL para as variáveis percentagens de espermatozóides móveis, motilidade progressiva, percentagem de espermatozóides de velocidade rápida e média mostrou-se superior a de  $800 \times 10^6$  spztz /mL e  $1000 \times 10^6$  spztz /ml. Para a variável velocidade média da trajetória do espermatozóide rápido (VAPR) não foi observada diferença significativa entre as concentrações testadas. Neste estudo, a concentração de  $600 \times 10^6$  spztz/ ml apresentou a melhor preservação dos parâmetros de motilidade após a congelação, tornando-se adequada para o uso na inseminação artificial. No entanto necessita-se de mais estudos *in vivo* para avaliar a eficiência desta técnica.

**Palavras-chave:** carneiro, concentração, congelação, sêmen

**Abstract:** it was objectified to verify the effect of the final concentration of spermatozoon of sheep on the parameters of motility of the frozen semen . Six ejaculated of five ram “Santa Inês” were collected, a time per week, made one pool and evaluated the volume, motility, vigor, concentration spermatic and fractioned in three aliquot of to test dilutions different ( $1000 \times 10^6$ ,  $800 \times 10^6$ ,  $600 \times 10^6$  spermatozoa for mL). The samples had been aspirated in straws of 0,25 mL, congealed in equipment TK 3000 and conserved in the cryogenic container. After 30 days, had been defrosted and the semen evaluated using the method CASA. It was used ANOVA to test the effect of the concentration of spermatozoa on the motility parameters. The concentration of  $600 \times 10^6$  spztz/mL for the variable percentage of mobile spermatozoa, progressive motility, percentage of spermatozoa of fast and average speed, revealed superior, significantly differing from  $800 \times 10^6$  x spztz /mL and  $1000 \times 10^6$  x spztz /ml. For the variable average speed of the trajectory of the fast spermatozoon (VAPR) it was not observed significant difference between the tested concentrations. In this study, the concentration of  $600 \times 10^6$  spztz/ml hadet the best preservation of the motility parameters after freezing, becoming adjusted for the use in the artificial insemination. However it was necessary more “*in vivo*” studies to evaluate efficiency this technique.

**Keywords:** ram, concentration, freezing, semen

### Introdução

A inseminação artificial ovina em muitos países é realizada utilizando sêmen diluído fresco e resfriado a 4°C ou 15°C. Apesar dos bons índices de fertilidade alcançados tal método tem a desvantagem de não permitir que o sêmen seja utilizado em locais distantes devido ao reduzido tempo de conservação do sêmen (Chemineau et al., 1991). A utilização do sêmen congelado veio otimizar a inseminação artificial na espécie ovina possibilitando uma maior pressão de seleção e conseqüentemente aumentando a eficiência produtiva do rebanho superando as restrições impostas a sua utilização (Bicudo et al., 2005). O sucesso da congelação depende notavelmente da taxa de diluição do sêmen. D’Alessandro et al. (2001) observaram que a percentagem de espermatozóides vivos após descongelação foi influenciada pela diluição espermática e a interação da concentração espermática e o diluidor. A determinação da concentração de espermatozóides móveis na palheta sem reduzir a fertilidade, influencia o número de inseminações cervicais e os índices de prenhez após inseminação artificial (Ritar & Ball, 1993). Nesse

contexto procurou-se verificar o efeito da concentração de espermatozóide sobre os parâmetros de motilidade do sêmen ovino congelado.

#### Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Andrologia, Tecnologia do Sêmen e Inseminação Artificial (LATSIA) da Embrapa Caprinos, localizado na estrada Sobral/ Groaíras. Foram utilizados cinco reprodutores da raça Santa Inês, com idade média de  $31,2 \pm 10,7$  meses, mantidos em regime intensivo, recebendo capim-elfante picado e 500g de um concentrado comercial, sal mineral e água *ad libidun*. O sêmen foi coletado uma vez por semana, durante seis semanas consecutivas, usando vagina artificial. Após a coleta realizou-se um pool de ejaculados para suprimir o efeito individual e obtenção de um volume de sêmen suficiente para ser fracionado e testar diluições diferentes ( $1000 \times 10^6$ ,  $800 \times 10^6$ ,  $600 \times 10^6$  espermatozoides). A amostra foi mantida em banho-maria a  $32^{\circ}$  C e avaliada quanto ao volume, motilidade, vigor e a concentração espermática. Em seguida foi envasado em palhetas de 0,25 mL e congelados no equipamento TK 3000 com programa P3S1 específico para ovinos. Após o processo da congelamento, as palhetas foram conservadas em botijão criogênico com nitrogênio líquido a  $-196^{\circ}$  C. Procedeu-se à descongelamento após 30 dias para avaliação da motilidade pelo método Computer Assisted Semen Analysis (CASA) realizado no laboratório de tecnologia de sêmen caprino e ovino da Universidade Estadual do Ceará. O delineamento experimental foi em blocos casualizados. Realizou-se o estudo da ANOVA para testar o efeito da concentração espermática na congelamento do sêmen. As médias foram comparadas pelo teste t-student com probabilidade de 5% de erro. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAS v. 6.11 (1996).

#### Resultados e Discussão

A concentração de  $600 \times 10^6$  spz/ mL para a percentagem de espermatozoides móveis e velocidade progressiva mostrou-se superior ( $P < 0,05$ ) diferindo das concentrações de  $800 \times 10^6$  spz/ mL e  $1000 \times 10^6$  spz/ mL (Tabela 1). A velocidade de espermatozoides rápidos e velocidade média, também foi superior na concentração de  $600 \times 10^6$  spz/ mL e teve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) quando comparado com as demais. Resultados similares foram constatados por D' Alessandro et al. (2001) em que o aumento da concentração final de espermatozoides de 500 para  $800 \times 10^6$  spz/mL afetou negativamente as características de integridade da membrana e motilidade espermática reduzindo as taxas de parições de ovelhas inseminadas com sêmen congelado. Uma redução na taxa de diluição do sêmen congelado para se obter uma alta concentração de espermatozóide na dose inseminante produziu uma baixa fecundação em ovinos (Salamom & Maxwell, 2000). Ritar & Ball (1993) observaram uma baixa fertilidade do sêmen diluído na proporção 1:0,5 mL e atribuíram a reduzida motilidade após a descongelamento, ao efeito de interações negativas entre espermatozóide, plasma seminal, componentes do diluidor e alta densidade espermática. Entretanto, o oposto foi constatado por Amir et al. (1973) ao proceder à diluição do sêmen na proporção de 1:10 verificando severa queda na fertilidade comparada com uma taxa de diluição de 1:1, mostrando que a concentração espermática tem bastante importância sobre a concepção das ovelhas após inseminação artificial. No que se refere à velocidade média da trajetória do espermatozóide rápido (VAPR) não foi observado diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as concentrações testadas neste estudo ( $600$ ,  $800$ ,  $1000 \times 10^6$  spz/ mL). Esta característica influencia positivamente na passagem do espermatozóide pela cêrvix, aumentando as chances de fecundação.

Tabela 1. Percentagem de espermatozoides móveis, motilidade progressiva, espermatozoides rápidos e médios, velocidade média da trajetória do espermatozóide rápido (VAPR) segundo a concentração espermática

Variável	Concentração ( $\times 10^6$ spz/ml)		
	600	800	1000
% spz móveis	61,12 <sup>a</sup>	49,86 <sup>b</sup>	39,18 <sup>c</sup>
Progressiva	13,02 <sup>a</sup>	9,61 <sup>b</sup>	6,83 <sup>c</sup>
Rápidos	17,46 <sup>a</sup>	11,94 <sup>b</sup>	7,82 <sup>c</sup>
Médios	8,63 <sup>a</sup>	7,16 <sup>b</sup>	4,85 <sup>c</sup>
VAPR	104,68 <sup>a</sup>	101,04 <sup>a</sup>	99,75 <sup>a</sup>

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste t ( $p < 0,05$ ).

### **Conclusões**

Recomenda-se a concentração de  $600 \times 10^6$  spz/ mL para preservação das características espermáticas após o processo de congelamento, porém necessita de mais estudos *in vivo* para viabilização da técnica.

### **Agradecimentos**

Ao Laboratório de Andrologia, Tecnologia do Sêmen e Inseminação Artificial da Embrapa/cnpc, ao Laboratório de Tecnologia do Sêmen da Universidade Estadual do Ceará/UECE, a Fundação Cearense de Apoio a Pesquisa / FUNCAP pela concessão da bolsa de Doutorado e a empresa Integral-mix pela doação da ração para os animais do experimento.

### **Literatura citada**

AMIR, D.; SCHINDLER, H.; EYAL, E.; LEHRER, A. R. The effect of the ratio of dilution of ram semen in different diluents on the conception rate. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, v. 13, p. 1-5, 1973.

D'ALESSANDRO, A. G. D.; MARTEMUCCI, G.; COLONNA, M. A.; BELLITTI, A. Post-thaw survival of ram spermatozoa and fertility after insemination as affected by prefreezing sperm concentration and extender composition. *Theriogenology*, v. 55, p. 1159-1170, 2001.

CHEMINEAU, P.; CAGNIÉ, Y. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. FAO Animal Production and Health Paper 83, Roma, 1991.

RITAR, A. J.; BALL, P. D. The effect of freeze-thawing of goat and sheep semen at high density of spermatozoa on cell viability and fertility after insemination. *Animal Reproduction Science*, v. 31, p. 249-262, 1993.

SALAMON, S.; MAXWELL, W.M.C. Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, Amsterdam, v. 62, p. 77-111, 2000.

BICUDO, S. D.; AZEVEDO, H. C.; SILVA MAIA, M. S.; SOUSA, D. B.; RODELLO, L. Aspectos peculiares da inseminação artificial em ovinos. *Acta Veterinariae*, v.33 (supl 1), p.127-130, 2005.