



Fontes de variação da congelação do sêmen caprino¹

Rui Machado², Aurino Alves Simplício³; Diônes Oliveira Santos⁴; Marcelo Renato Alves de Araújo⁵

¹ Embrapa – projeto: 010880045

² Méd.-Veterinário, M.Sc., Dr. Embrapa Pecuária Sudeste

³ Méd.-Veterinário, M.Sc., Ph.D. EMPARN/CNPq

⁴ Méd.-Veterinário, M.Sc., Dr. Embrapa Caprinos e Ovinos

⁵ Eng. Agrônomo, M.Sc., Ph.D. Embrapa Caprinos e Ovinos

Resumo - Este estudo avaliou os efeitos da raça e época de coleta do ejaculado sobre os atributos do sêmen hircino destinado à congelação. Foram utilizados 24 bodes das raças (n=8/cada) Pardo-alpina, Moxotó e ½ Alpino_ ½moxotó, que foram submetidos à coletas quinzenais do sêmen nas épocas seca e chuvosa de dois anos consecutivos. Compararam-se características físico-químicas, quantitativas e morfológicas do sêmen através de técnicas padronizadas. A congelação de sêmen seguiu o protocolo da Embrapa. Procedeu-se a análise de variância pelo método dos quadrados mínimos. A raça teve efeito significativo (P<0,05) sobre todos atributos, exceto volume ejaculado, motilidade individual progressiva (MIP) e percentual de defeitos morfológicos maiores e menores. A estação do ano também afetou todos atributos, exceto a MIP na glicerolização e o vigor pós-congelação/descongelação. Interação significativa raça x época foi observada para MIP, MIP e vigor à refrigeração e defeitos morfológicos maiores e totais. Conclui-se que os atributos do sêmen hircino variam conforme o genótipo e a época do ano, fatores que influenciam a resposta animal aos procedimentos de congelação e que, portanto, devem ser considerados quando da industrialização de sêmen caprino.

Palavras-chave: bode, Moxotó, Pardo-alpina, época do ano

Variation sources of the process to freeze buck semen

Abstract - This study evaluated the effects of breed of semen donor as well as season/order of collection of ejaculates on the attributes of the buck semen destined to freezing. A total of 24 male goats from (n=8 each) Brown alpine, Moxotó and ½ Alpine ½ Moxotó breed types were submitted to semen collection throughout rainy and dry seasons of two consecutive years under a biweekly basis. Physical and chemical, morphological and quantitative attributes were assessed through standard methods. Sperm freezing followed the optimized protocol developed by Embrapa. Data were assessed by the method of the LS means of ANOVA. Breed affected all attributes except volume of ejaculate, progressive individual motility (PIM) and percentage of major and minor morphologic defects. Season of the year also effected all attributes, except PIM at addition of glycerol and sperm vigor after freezing/thawing. Significant interaction breed x season was observed for PIM, PIM and sperm vigor at cooling, as well as total and major sperm defects. It has been concluded that buck semen attributes vary according to breed and season of the year. These factor affect the animal response to freezing procedures e must be considered when frozen semen is to be produced.

Keywords: Brown alpine, buck, Moxotó, season of the year

INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) é a mais poderosa ferramenta à serviço da genética populacional aplicada. Ela pode aumentar a produtividade dos rebanhos pela propagação da genética superior com o uso massal de sêmen de doadores provados para características de interesse. Tecnicamente, avanços significativos no processamento do sêmen do bode foram alcançados nas últimas décadas (Ritar & Salamon, 1991; Machado & Simplício, 1992). No entanto, devido às particularidades do ejaculado do bode, a congelação ainda tem caráter quase que artesanal, especialmente pelo reduzido número de doses produzidas por ejaculado coletado. Nesse contexto, há interesse de serem conhecidos os fatores que afetam a produtividade da congelação para que se possa otimizar o processo como um todo e inclusive diminuir o custo de produção da dose inseminante. O presente estudo objetivou determinar fatores que influenciam nos atributos seminais que têm impacto sobre a qualidade e a quantidade de sêmen caprino congelado.



MATERIAL E MÉTODOS

Vinte-e-quatro bodes das raças Pardo-alpina, Moxotó e $\frac{1}{2}$ Alpino $\frac{1}{2}$ moxotó (n=8/cada) com 10 meses de idade foram usados neste estudo, realizado na Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, região semi-árida do Nordeste do Brasil. Por dois anos, os machos foram mantidos em pastagem nativa de caatinga com suplementação concentrada na época seca do ano, suficiente para manter o crescimento dos animais. As coletas foram semanais em vagina artificial, de modo que a cada 14 dias, um ejaculado era destinado para o espermiograma e outro era congelado. O espermiograma seguiu os procedimentos descritos por Santos et al. (1997). O sêmen foi congelado segundo protocolo da Embrapa Caprinos e Ovinos, baseado na remoção do plasma seminal com solução tampão, glicerol a 7% como crioprotetor e diluição em leite desnatado a 10% enriquecido com antibióticos e glicose. O envase foi em palhetas francesas (0,5mL) e a preservação em N₂liq. a -196°C (Machado & Simplício, 1992). No espermiograma avaliaram-se: volume ejaculado, concentração espermática, motilidade individual progressiva (MIP), vigor, % de células vivas e mortas, defeitos morfológicos maiores, menores e totais (pela classificação de Blom). Para a congelação do sêmen foram avaliados inicialmente no ejaculado: volume, concentração, número total de espermatozoides ejaculados, MIP e vigor. As variáveis mensuradas no processo de congelação foram: MIP e vigor à refrigeração (sêmen pré-diluído à temperatura de 5°C), MIP e vigor após a adição de glicerol, MIP e vigor após congelação (-196°C)/descongelação ($+37^{\circ}\text{C}/30$ seg) e o número total de doses de sêmen congelado produzidas. Os achados foram submetidos à análise de variância pelos quadrados mínimos (Snedecor & Cochran, 1980) usando o proc GLM (SAS, 1990). As variáveis percentuais foram transformadas em ângulos pela função arcseno ($x' = \arcsen \sqrt{x/100}$) e as classificatórias pela função raiz quadrada ($x' = \sqrt{x} + 0,5$). Os modelos matemáticos tiveram a inclusão da covariável ordem de coleta.

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i + E_j + RX_{ij} + b(P_{ijk} - \bar{P}) + E_{ijklm}$$

Onde:

$$Y_{ijkl} = \text{volume}$$

mn

μ = média geral

R_i = Efeito da i-ésima raça do doador, $i = 1, 2, 3$;

E_j = Efeito da j-ésima época do ano, $j = 1, 2$;

RX_{ij} = Efeito da interação raça vs. época, $ij = 1, 2, 3, 4, 5, 6$;

b = Coeficiente de regressão linear do volume Y_{ijklm} sobre a ordem de coleta;

P_{ijk} = Ordem de coleta

\bar{P} = Média da ordem de coleta;

E_{ijklm} = Erro aleatório de cada observação suposto normal e independentemente distribuído com média zero e variância σ^2 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 constamos resultados do espermiograma (consolidados de 629 ejaculados). A época seca do ano associa-se a baixa disponibilidade quanti-qualitativa de forragens e a combinação disso a climáticos fatores estressores (alta temperatura ambiente e baixa umidade relativa do ar) favorecem os distúrbios da espermatogênese (Santos et al., 1997), embora nem sempre tenham magnitude para prevenir a reprodução na época seca (Guerra et al., 2009).

Na tabela 2 estão mostrados os resultados do processo de congelação (603 ejaculados). Assim como relatado por Ritar & Salamon (1991) e na revisão de Guerra et al. (2009), no presente experimento, a época do ano afetou a maioria dos atributos, exceto sobre MIP à glicerolização e vigor pós congelação. Portanto, há espaço para otimização tanto do manejo para os bodes doadores como para o processo de congelação de sêmen.

De fato, no processamento do sêmen "in natura" visa-se corrigir ou minimizar as variações pós-colheita para que o produto acabado tenha um determinado padrão. Neste experimento, nem o manejo adotado para os doadores e nem a industrialização do sêmen logrou remover a ação da época do ano sobre o produto final, pois atributos importantes para a industrialização, tanto qualitativos (MIP pós-congelação) como quantitativos (número de doses produzidas) sofreram variação sazonal. A ação de época sobre sêmen de caprinos nativos criados na caatinga havia sido reportada (Traldi, 1983). Porém esse efeito sobre o espermiograma de caprinos exóticos criados nessas condições é menos documentado, especialmente quando

se consideram variáveis intrínsecas á preservação de sêmen (Machado & Simplicio, 1992; Guerra et al., 2009). O efeito de raça sobre os atributos quantitativos do sêmen pode ser explicado, parcialmente pela diferença no porte dos animais dos distintos genótipos. Houve diferenças nos atributos qualitativos, incluindo aqueles relativos à congelação (Tabela 2). Tais achados corroboram estudos anteriores de Ritar & Salamon (1991), de Machado & Simplicio (1992) e aqueles levantados em Guerra et al. (2009).

Tabela 1 – Níveis de significância para diferentes atributos do sêmen caprino avaliados ao espermiograma.

Atributos	raça	Época do ano	Interação Raça x época	CV (%)
volume ejaculado	ns	P<0,001	ns	45,0
concentração espermática	P<0,001	P<0,001	ns	21,7
motilidade individual progressiva	ns	P<0,001	ns	14,9
vigor	P<0,01	P<0,001	ns	9,8
% de células vivas e mortas	P<0,01	P<0,001	ns	9,4
defeitos morfológicos maiores	ns	P<0,001	ns	35,1
defeitos morfológicos menores	ns	P<0,001	P<0,05	41,1
defeitos morfológicos totais	P<0,05	P<0,001	P<0,05	35,8

Tabela 2 – Níveis de significância para atributos do sêmen caprino avaliados na congelação.

Atributos	raça	Época do ano	Interação Raça x época	CV (%)
MIP à refrigeração	P<0,01	P<0,001	P<0,01	36,1
vigor à refrigeração	P<0,01	P<0,001	P<0,01	20,3
MIP após a adição de glicerol	P<0,001	ns	ns	17,1
vigor após a adição de glicerol	P<0,05	P<0,05	ns	10,7
MIP após congelação/ descong.	P<0,05	P<0,05	ns	34,9
vigor após congelação/ descong.	P<0,05	ns	ns	16,6
número total de doses produzidas	P<0,001	P<0,001	ns	46,0

CONCLUSÕES

A caracterização seminal dos caprinos depende da raça do animal e esta sujeita aos efeitos de época do ano.

O processo de congelação não remove a influência dos efeitos (climáticos, entre outros) de época do ano sobre os parâmetros, qualitativos e quantitativos, da industrialização do sêmen do bode.

Há oportunidades para melhoramento da tecnologia de congelação de sêmen dessa espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GUERRA, M.M.P.; SOUZA, A.F. de; SOARES, A.T.; CÉESAR, C.N.R.; SILVA, S.V.; BATISTA, A.M. Aspectos críticos da congelação do sêmen caprino. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, XVIII (Anais), p. 46-56. 2009. Disponível em CD_Rom.
- MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Effects of two washing solutions on sperm survival of bucks. In: Acharya, R.M., Recent advances in goat production, IGA, New Dehli, p. 1089-1094, 1992.
- RITAR, A.J.; SALAMON, J. Effect of month collection, method of processing and duration of storage on viability of Angora goat spermatozoa. Small Ruminant Research, v.4, n. 1, p. 29-37, 1991.
- SANTOS, D.O.; SIMPLÍCIO, A.A.; MACHADO, R. Insulação escrotal em bodes mestiços. A Hora Veterinária, v.17, n.98, p.26-30, 1997.

- 5 SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, N.G. **Statistical methods**. 9th ed. The Iowa State press, Ames. 1987.
- 6 TRALDI, A.S. Aspectos físicos e morfológicos do sêmen de caprinos da raça Moxotó da puberdade à maturidade sexual. **Dissertação** (mestrado). Universidade Federal de Minas gerais, 1983. 92p.