

---

## UTILIZAÇÃO DA GEMA DE OVO DE DIFERENTES ESPÉCIES E PROPORÇÕES SOBRE A CONSERVAÇÃO DO SÊMEN CONGELADO DE OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS<sup>1</sup>

Fátima Revia Granja Lima<sup>2</sup>, Airton Alencar de Araújo<sup>3</sup>, Diônes Oliveira Santos<sup>4</sup>, Ítalo Cordeiro Silva Lima<sup>5</sup>, Katiane Queiroz Silva<sup>5</sup>, Angela Maria Vasconcelos<sup>6</sup>, Gustavo Milani<sup>7</sup>, Iana Sérvulo Gomes Maia<sup>8</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: [reviagranja@yahoo.com.br](mailto:reviagranja@yahoo.com.br)

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

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

<sup>5</sup>Mestrandos do Programa de Pós-graduação em Zootecnia-UFC

<sup>6</sup>Professora do Curso de pós-graduação em Zootecnia-UVA

<sup>7</sup>Médico Veterinário

<sup>8</sup>Graduanda em Zootecnia-UFC

**Resumo:** Objetivou-se verificar a utilização da gema de ovo de diferentes espécies e sua taxa de adição (10% e 20%) sobre as características de motilidade do sêmen congelado de carneiro. Foram coletados cinco ejaculados de três carneiros da raça Santa Inês, uma vez por semana. Após a coleta foi feito um pool do ejaculado e avaliado o volume, motilidade, vigor e concentração espermática. O pool foi fracionado em quatro alíquotas para testar diferentes tratamentos: Tris (10% e 20% de gema de ovo de galinha caipira) e Tris (10% e 20% de gema de ovo de codorna). As amostras foram envasadas em palhetas de 0,25 ml e congeladas na temperatura de -79° C em equipamento TK 3000. Após 30 dias, foram descongeladas, e o sêmen avaliado pelo método CASA. Os dados foram analisados pela ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de tukey (5% de probabilidade). A porcentagem de espermatozoides móveis foi significativamente melhor no Tris com 10% de gema de ovo de galinha. As variáveis, motilidade progressiva e motilidade de espermatozoides rápidos apresentaram as melhores taxas no Tris com 10% de gema de ovo de galinha, mas não diferiram do Tris com 10% de gema de ovo de codorna. A VAPR foi superior no Tris com 20% de gema de ovo de galinha. Neste estudo, a porcentagem de gema de ovo de ambas as espécies foi que melhor preservou os parâmetros de motilidade espermática. A gema de ovo de codorna poderá ser uma alternativa, no entanto, mais estudos *in vivo* são necessários para avaliar sua eficiência como um aditivo ao diluidor Tris.

**Palavras-chave:** carneiro, diluidor, reprodução,

**Abstract:** This study aimed to verify the influence of eggs yolk types (chicken and quail) and addition rates (10% and 20%) on the motility parameters of ram frozen semen. Five ejaculated of the three Santa Inês rams were collected once a week. After collection a pool of the ejaculates was made and evaluated for volume, motility, vigor and sperm concentration. Fractioned in four aliquotas for the test of treatment different: Tris (10% and 20% of egg yolk of hens) and Tris (10% and 20% of egg yolk of quail). The samples were potted in straws of 0,25 mL and frozen at a temperature of -79° C in the equipment TK 3000. After 30 days, were thawed and evaluated the semen by CASA method. Data were analyzed by ANOVA and means compared by Tukey test (5% of probability). The percentage of mobiles spermatozoa was significantly better in Tris

with 10% of egg yolk of chicken. The variables progressive motility and rapid motility of spermatozoa showed the best rates in Tris with 10% of chicken egg yolk, but didn't differ in Tris with 10% off egg yolk of quail. The VAPR was superior in Tris with 20% of egg yolk of chicken. In this study, the percentage of 10% off egg yolk in the both species was best preserved in the parameters of sperm motility. The egg yolk of quail may be an alternative; however, further studies "in vivo" are necessary to evaluate its efficiency as an additive for Tris extender.

**Keywords:** ram, extender, reproduction

### Introdução

A prática da inseminação artificial nos rebanhos tem apresentado algumas limitações como a manutenção da viabilidade e capacidade de fertilização dos espermatozoides por um longo período em baixa temperatura. A gema de ovo é, há muitos anos, um componente utilizado rotineiramente nos meios de conservação do sêmen de várias espécies. Esta substância apresenta uma ação preservadora sobre o metabolismo, motilidade e fertilidade de espermatozoides conservados a baixas temperaturas (MAYER e LASLEY, 1945). Seu efeito protetor está associado ao complexo de lipoproteína, fração de baixa densidade da gema (LDL) cujos constituintes se ajustam e envolvem a membrana espermática formando uma película protetora contra os cristais de gelo formados durante o processo de congelamento (MOUSSA et al., 2002). Vários estudos são conduzidos com gema de ovo proveniente de diferentes espécies de aves e testados nos diluidores de sêmen de mamíferos objetivando melhorar a criopreservação dos espermatozoides (MORENO-SANTIAGO et al., 2008; SU et al., 2008). Nesse sentido buscou-se no presente estudo verificar a utilização dos diferentes tipos de gema de ovo (galinha e codorna) e sua porcentagem (10% e 20%) sobre as características de motilidade do sêmen congelado de ovino.

### Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Andrologia, Tecnologia do Sêmen e Inseminação Artificial (LATSIA), da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizado na estrada Sobral/Groaíras no estado do Ceará. Foram utilizados três reprodutores ovinos da raça Santa Inês com idade média de  $31,2 \pm 10,7$  meses, mantidos em sistema de criação intensivo recebendo capim-elefante (*Pennisetum purpurum*) picado e 500g de um concentrado comercial, sal mineral e água *ad libidum*. O sêmen foi coletado uma vez por semana, durante cinco semanas, usando vagina artificial. Após, feito um pool de ejaculados para suprimir o efeito individual e obter um volume de sêmen suficiente para serem testados os protocolos de congelamento. Em seguida, as amostras foram mantidas em banho-maria a 32° C e avaliadas quanto ao volume, a motilidade, o vigor e à concentração espermática. Após a mensuração da concentração espermática, em espectrofotômetro, este foi diluído em quatro tratamentos: 76,5% de Tris, 20% de gema de ovo de galinha caipira e 3,5% de glicerol, 86,5% de Tris, 10% de gema de ovo de galinha caipira e 3,5% de glicerol, 76,5% de Tris, 20% de gema de ovo de codorna e 3,5% de glicerol e 86,5% de Tris, 10% de gema de ovo de codorna e 3,5% de glicerol. As amostras foram envasadas em palhetas de 0,25 mL para serem congeladas na temperatura de 79°C em equipamento TK 3000, com programa P3S1, específico, para ovinos. Quando atingida a temperatura de -79° C foram transferidas para o botijão criogênico e conservadas em nitrogênio líquido a -196° C. Após 30 dias de congelamento foi procedida à descongelamento, para análise das características de motilidade, método Computer Assisted Sêmen Analysis (CASA) realizadas no Laboratório de Tecnologia do Sêmen Caprino e Ovino da Universidade Estadual do Ceará. A Análise estatística foi feita no delineamento experimental inteiramente casualizado, com arranjo fatorial dois por dois.

## Resultados e Discussão

A porcentagem de espermatozoides móveis foi significativa ( $P < 0,05$ ) para o tratamento Tris com 10% de gema de ovo de galinha em relação ao sêmen congelado nos demais tratamentos (Tabela 1). Foram semelhantes aos resultados de Ritar e Ball (1993) ao constatarem um declínio da motilidade espermática de carneiro no diluidor Tris com 12% de gema de ovo de galinha. Isto possivelmente, deve-se a maior proporção da gema de ovo no diluidor, devido à ação de substâncias de efeitos deletérios sobre os espermatozoides. No tocante ao percentual de espermatozoides com velocidade progressiva, os maiores valores ( $P < 0,05$ ) de 21,8 e 20,2% foram observados com gema de ovo de galinha e de codorna, respectivamente, diluídas em concentrações de 10%. Estes resultados diferem de Marco-Jiménez et al. (2004) que não encontraram diferenças nos parâmetros da motilidade espermática após congelação do sêmen em diluidores com concentrações de 10%, 15%, 20% de gema de ovo de galinha. O tratamento Tris com 10% de gema de ovo de galinha apresentou a melhor porcentagem de espermatozoides com velocidade rápida, mas não diferiu ( $P > 0,05$ ) do Tris com 10% de gema de ovo de codorna, no entanto foi superior aos demais tratamentos. As semelhanças dos resultados devem-se provavelmente ao colesterol presente em ambas os tipos de gema apresentarem a mesma eficiência para preservar as membranas espermáticas de ovinos. Estes resultados foram diferentes dos de Su et al. (2008) ao comentarem que o sêmen de bovino congelado no diluidor Tris com 20% de gema de ovo de galinha apresentou viabilidade espermática superior ao sêmen no Tris com 20% de gema de ovo de codorna. No que se refere a variável velocidade média do percurso do espermatozoide (VAPR), foi observado que o sêmen diluído no Tris com 20% de gema de ovo de galinha foi superior ( $P < 0,05$ ) aos demais, confirmando os resultados de Santiago-Moreno et al. (2008) ao relatarem que o Tris com gema de ovo de galinha preservou melhor a integridade da membrana e viabilidade do espermatozoide epididimário de caprino. Estas características influenciam positivamente na passagem do espermatozoide pela cêrvix ovina, aumentando as chances de fecundação.

**Tabela 1.** Efeito do tipo de gema de ovo e sua proporção sobre os parâmetros de motilidade do sêmen congelado.

Tipos de gema	Proporção de gema	Espermatozoides	Motilidade	Motilidade de	VAPR
		Móveis (%)	Progressiva (%)	espermatozoides Rápidos (%)	
Galinha	10%	54,4 ± 3,9 <sup>a</sup>	21,8 ± 1,6 <sup>a</sup>	26,2 ± 2,5 <sup>a</sup>	138,5 ± 2,9 <sup>b</sup>
	20%	40,5 ± 3,6 <sup>b</sup>	17,4 ± 1,3 <sup>b</sup>	19,5 ± 1,8 <sup>b</sup>	141,3 ± 2,0 <sup>a</sup>
Codorna	10%	44,3 ± 3,0 <sup>b</sup>	20,2 ± 1,4 <sup>a</sup>	22,5 ± 1,9 <sup>ab</sup>	138,0 ± 2,1 <sup>b</sup>
	20%	43,6 ± 4,5 <sup>b</sup>	18,7 ± 2,0 <sup>b</sup>	21,0 ± 2,7 <sup>b</sup>	135,6 ± 3,6 <sup>c</sup>

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

## Conclusões

Recomenda-se a proporção de 10% de gema de ovo no diluidor para criopreservação do espermatozoide de carneiro. A gema de ovo de codorna poderá ser usada como alternativa, porém ainda requer estudos *in vivo* para validar sua viabilidade.

### **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.

### **Literatura citada**

MARCO-JIMÉNEZ, F.; PUCHADES, S.; MOCE, E.; VINDES-DE-CASTRO, M.P.; VICENTE, J.S.; RODRIGUEZ, M. Use of powdered egg yolk vs fresh yolk for the cryopreservation of ovine semen. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 39, p. 438-441, 2004.

MAYER, D.T.; LASLEY, J.F. The factor in egg yolk affecting the resistance, storage potentialities, and fertilizing capacity of mammalian spermatozoa. **Journal of Animal Science**. v.4, p. 261-29, 1945.

MOUSSA, M.; MARTINET, V.; TRIMECHE, A.; TAINURIER, D.; ANTON, M. Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by na easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. **Theriogenology**. v. 57, p. 1695-1706, 2002.

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 ather insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 31, p. 249-22, 1993.

SANTIAGO-MORENO, J.; COLOMA, M. A.; TOLEDANO-DÍAZ, A.; GÓMEZ-BRUNET, A.; PULIDO-PASTOR, A.; ZAMORA-SORIA, A.; CARRIZOSA, J.A.; URRUTIA, B. A comparison of the protective action of chicken and quail egg yolk in the cryopreservation of Spanish ibex epididymal spermatozoa. **Cryobiology**. v. 57, p. 25-29, 2008.

SU, L.; LI, X, QUAN, J.; YANG, S.; LI, Y.; HE, X, TANG, X. A comparision of the protective action of added egg yolks from Five avian species to the cryopreservation of bull sperm. **Animal Reproduction Science**, v. 104, p. 212-219, 2008.