

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

Diretor: Prof. Dr. João Soares Veiga

DILUIDORES VEGETAIS PARA SÊMEN DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS. III — INFUSO DE FÓLHAS FENADAS DE ALFAFA (*MEDICAGO SATIVA*) E DE FÓLHAS FENADAS DE GUANDU (*CAJANUS sp*) COMO DILUIDORES DO SÊMEN DE BOVINOS *

(VEGETABLE SOLUTIONS AS DILUENT FOR SPERM MATERIAL OF THE DOMESTIC ANIMALS. III — THE INFUSION OF DRIED ALFAFA LEAVES (*MEDICAGO SATIVA*) AND DRIED "GUANDU" LEAVES (*CAJANUS sp*) FOR THE PREPARATION OF SOLUTIONS FOR BOVINE SPERM MATERIAL)

N. MASOTTI
Professor Assistente

R. CAMPANARUT BARNABE
Instrutor

A inseminação artificial, técnica moderna de reprodução, que permite aumentar a capacidade procriadora dos machos e que constitui uma arma eficiente no combate às doenças relacionadas ao aparelho genital, desde que acompanhada de rigorosa profilaxia, tem evoluído grandemente em nosso e noutros países, cooperando assim, para um mais rápido melhoramento dos rebanhos.

Um dos capítulos de maior importância, que se prende a tais pesquisas, é, sem dúvida, a questão da diluição do sêmen. Assim, visam êsses estudos o aumento do volume dos ejaculados, e conseqüentemente um aproveitamento maior dos bons reprodutores. A diluição deve encarar também a questão de proporcionar condições à conservação dos espermatozóides, utilizando-se, de preferência, líquidos de fácil preparo que além de econômicos, não possuam substâncias tóxicas ou capazes de possibilitar desenvolvimento de micróbios.

Desde SPALLANZANI (BONADONNA — 1962), sábio que previu a viabilidade dos espermatozóides fora do organismo vivo e a possibilidade de sua diluição, inúmeros pesquisadores dedicaram-se ao assunto, utilizando-se dos mais variados líquidos, notadamente de origem orgânica (sêro sanguíneo, humor vítreo, extratos de órgãos, gema de ovo, leite, etc.), soluções fisiológicas ou soluções tampões especiais, com bases salinas.

* O presente trabalho foi executado no Pôsto de Inseminação Artificial do Instituto de Zootecnia e Indústrias Pecuárias "Fernando Costa", em Pirassununga, Estado de São Paulo

É relativamente recente a introdução dos líquidos vegetais como diluidores do material seminal de bovinos.

CHIEFFI e MASOTTI, em março de 1958, apresentaram, em comunicação verbal à Sociedade Paulista de Medicina Veterinária uma nota prévia, sobre a diluição e conservação do sêmen, utilizando a água de côco (*Cocos nucifera*) e gema de ovo (GECO). O trabalho publicado (1959) revelou a possibilidade de ser utilizado tão somente o líquido do fruto e gema de ovo, na proporção de 3:1 diferentemente de NORMAN e cols. (1958 e 1959), que adicionavam 15% de água de côco em diluidor gema-citrato (2,16%), estudando sua ação na conservação do material espermático em meio ambiente.

Ainda em 1959, CHIEFFI e MASOTTI verificaram ser possível o emprêgo de "caldo de tomate" e gema de ovo (3:1) na diluição e conservação de sêmen bovino, diluidor êsse a que chamaram GETO.

CHIEFFI e REIS, em 1960, prepararam uma emulsão de 100 partes de "caldo de tomate", 20 partes de gema de ovo, 10 partes de sôro de leite e 10% do total de glicerol (Novo GETO), verificando melhor conservação do sêmen diluído, quando comparado ao GETO, nas primeiras 120 horas após a colheita.

No intuito de aumentar o número de diluidores vegetais visando solucionar, possivelmente, os problemas regionais, as observações de nosso trabalho prenderam-se ao comportamento de líquido obtido através da infusão de fôlhas fenadas de alfafa (*Medicago sativa*), na conservação do ejaculado de touro, bem como ao índice de fecundação. Concomitantemente, fizemos as mesmas observações em relação à infusão de fôlhas fenadas de guandu (*Cajanus sp.*).

MATERIAL E METODO

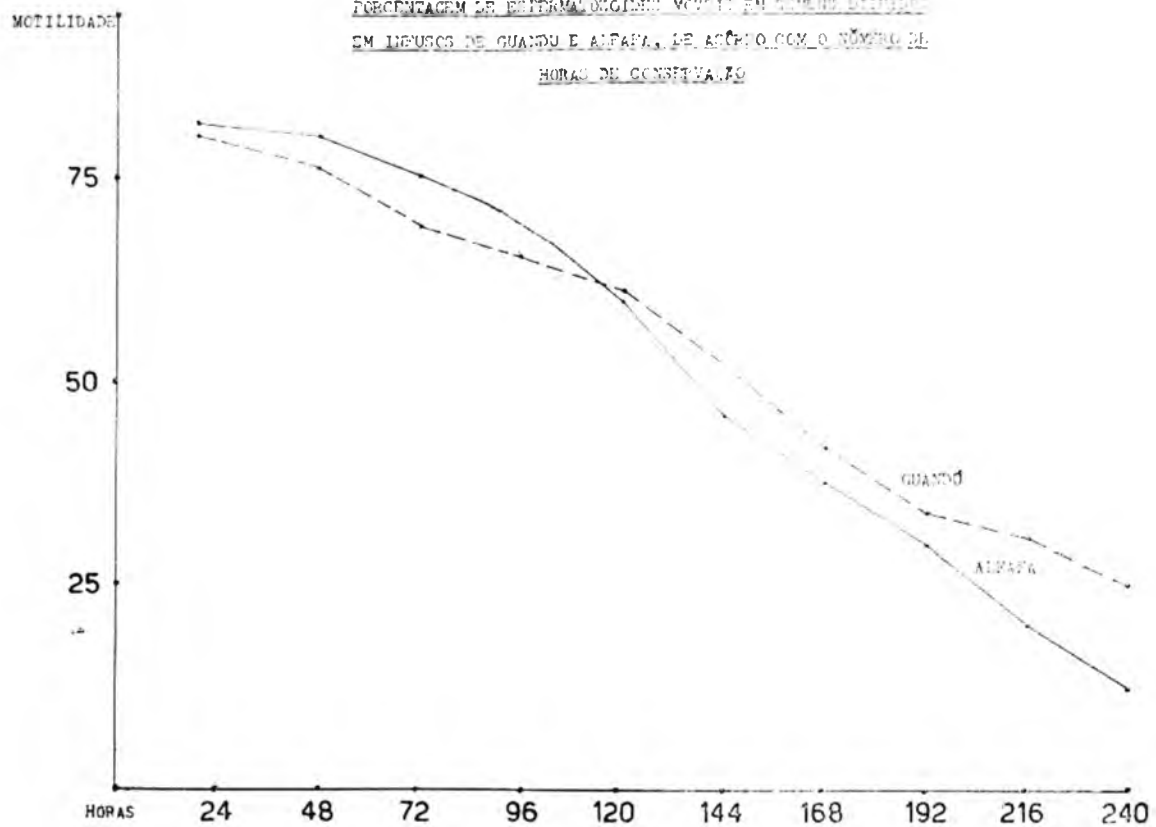
Para o preparo dos diluidores, adicionou-se às fôlhas fenadas de alfafa ou de guandu, água fervente, na proporção de 1:10, deixando-se em contacto por 2 a 3 minutos. O infuso obtido foi filtrado em gaze e após correção do pH a 6,8 com uma solução saturada de bicarbonato de sódio, esterilizado por tindalização. A seguir, foram adicionadas gema de ovo, na proporção de 50%, 750 U de Penicilina sódica e 750 mg de Sulfato de Estreptomicina por ml de diluente.

O sêmen utilizado foi colhido de touros da raça Holandesa, variedade preta e branca, em modelo clássico de vagina artificial.

As amostras foram avaliadas macro e microscópicamente logo após a colheita, e diluídas sempre na proporção de uma parte de sêmen para quatro partes de diluidor.

GRÁFICO I

PERCENTAGEM DE ENTERALOCIDINOS MÓVILS EM CÉLULAS BACTERIAIS
EM LÍQUIDOS DE GUANDU E ALFAPA, DE AÇÓPIO, COM O NÚMERO DE
HORAS DE CONSISTIVAZO



Estudaram-se 23 amostras de alfafa e 34 de guandu, mantidas em refrigerador, à temperatura de 2 a 7°C, examinadas diariamente pelo mesmo observador, que atribuía uma nota de 0 a 100, até o momento em que não mais se verificasse motilidade (gráfico I).

Foram inseminadas 17 vacas com o diluidor de alfafa e 18 com o de guandu, registrando-se 9 vacas fecundadas no primeiro caso e 10 no segundo, pelo método da palpação retal.

Tôdas as vacas utilizadas pertenciam ao rebanho do Instituto de Zootecnia e Indústrias Pecuárias "Fernando Costa", com exceção de uma delas, e foram inseminadas pelo processo da inseminação cervical profunda, utilizando-se o afastador vaginal, modêlo simplificado segundo Polansky, e pinça para tração uterina de Götze. Um único operador procedeu às inseminações, utilizando-se de 1 ml de sêmen diluído.

DISCUSSÃO

As amostras de sêmen, diluídas nos novos diluidores vegetais, permitiram a confecção do gráfico I, onde se verifica maior porcentagem de espermatozóides vivos, dentro das primeiras 96 horas, para o material diluído em alfafa. Não obstante isso, observações feitas até 240 horas (10 dias) após a diluição revelam uma queda mais gradativa e mais estável do material diluído em guandu, que se reduz em quase 70% de motilidade microscópica (de 80,58% nas 24 horas a 25% nas 240 horas), ao passo que o material diluído em alfafa sofre uma queda mais acentuada, da ordem de 84% aproximadamente (de 82,60 a 12,85%) nesse mesmo período de tempo.

Considerando, porém, que o trabalho de rotina do Posto de Inseminação Artificial do Instituto de Zootecnia e Indústrias Pecuárias "Fernando Costa" mantém, como norma, duas colheitas semanais, de modo a permitir o máximo de aproveitamento de sêmen, dentro dos 4 dias da colheita, resulta que ambos os diluidores mostraram-se favoráveis quanto à conservação do sêmen.

Verificou-se, ainda, que ambos os infusos, guardados em geladeira, apresentam boas qualidades para a diluição e conservação do sêmen, até 3 meses após o seu preparo.

Tanto o sêmen diluído em alfafa, quanto o diluído em guandu não apresentam problemas quanto à visibilidade e transparência microscópicas, nos exames habituais, em gôta pendente.

Para a obtenção de 9 vacas prenhes, em 17 inseminadas, foram necessárias 21 inseminações com material seminal diluído em alfafa. Isto nos dá um índice de 2,3 inseminações por prenhez.

No caso do guandu, de 18 vacas inseminadas, conseguiram-se 10 vacas fecundadas com 18 inseminações, obtendo-se um melhor índice de inseminação (1,8).

As porcentagens de fecundação obtidas, nos dão 52,8% para a alfafa e 55,5% para o guandu. Essas cifras, relativamente baixas, poderiam ser justificadas, levando-se em consideração a severa seca que assolava a região na época das inseminações. O empobrecimento das pastagens foi gradativo à medida que o experimento prosseguia, verificando-se também, queda de fecundação tanto nos animais inseminados com o tradicional gema-citrato, quanto nas coberturas naturais a campo ou no curral.

Justifica-se também o pequeno número de vacas inseminadas pelo fato de, em se tratando de diluidores de resultado até então desconhecido, foram utilizadas apenas algumas vacas para verificação dos efeitos.

Das nove vacas prenhes com o material diluído em alfafa, obtivemos 6 produtos a termo, sendo 2 machos e 4 fêmeas. Duas delas tiveram abortos comprovados e uma morreu ainda em período de gestação, o que foi verificado à necropsia.

Com o material diluído em guandu, ficaram fecundadas 10 vacas, registrando-se 9 nascimentos a termo, sendo 4 machos e 5 fêmeas. Aqui também houve o óbito de uma vaca, cuja prenhez também foi comprovada pelo exame "post-mortem".

CONCLUSÕES

Os AA. observaram o comportamento "in vitro" e "in vivo" de material seminal de bovinos, diluído em infusão de fôlhas fenadas de alfafa e de guandu, com adição de 50% de gema de ovo.

Os resultados obtidos pela conservação foram considerados bons, até 96 horas após a colheita, de acordo com os exames das amostras diluídas nesses novos diluidores e mantidas em geladeira, à temperatura de 2-7°C. Verificou-se que, embora as amostras diluídas em guandu se apresentassem relativamente com menor porcentagem de elementos vivos, dentro das primeiras 96 horas, que as amostras diluídas em alfafa, estas sofriam uma queda mais abrupta nas observações até 240 horas de conservação.

A técnica para a obtenção dos diluidores foi descrita, destacando-se pela simplicidade do seu preparo, duração relativamente grande dos infusos e facilidade de encontro desse material em diversas fazendas do Estado e outras regiões do Brasil. No que se refere à alfafa, tratando-se de planta mais cosmopolita que o guandu, seu cultivo é bastante freqüente nas mais variadas regiões do globo, sobressaindo-se, então, a sua utilização como diluidor.

Foram descritos o número de vacas inseminadas, o número de inseminações necessárias por prenhez e as porcentagens de fecundação. Não se pode dizer que foram excelentes as porcentagens de fecundação obtidas, mas devem-se levar em consideração as condições regionais e o pequeno número de vacas utilizadas.

SUMMARY

The authors observed the behaviour "in vitro" and "in vivo", of bovine spermatic material, diluted in infusion of dried alfafa leaves and dried "guandu" leaves, plus 50% of egg-yolk.

Results obtained with semen diluted in those mixtures and preserved at 2-7°C were considered good for the first 96 hours of preservation.

It was observed that samples diluted in dried "guandu" leaves infusion presented lower number of living spermatozoa than samples diluted in dried alfafa leaves infusion in the first 96 hours of preservation. However, for a period of 240 hours of preservation the number of dead cells was larger in alfafa mixture than in "guandu" one.

The above mentioned diluters were prepared as following:

1) Dried alfafa leaves or dried "guandu" leaves were put in boiling water for 2 or 3 minutes in the proportion of 1:10.

2) The infusions were filtrated in gauze and the pH adjusted to 6.8 with saturated sodium bicarbonate solution and sterilized by tyndallization.

3) Seven hundred and fifty units of sodic penicillin and 750 mg of streptomycin sulphats were added for each ml of the infusion. Egg-yolk was added in the basis of 1:1.

Conception rate in cows inseminated with semen diluted in those diluters (pregnant diagnosis by palpation) were 52,8% for alfafa (17 cows inseminated) and 55,5% for "guandu" (18 cows inseminated).

Although the rates of conception can not be classified as satisfactory, local conditions must be considered. Cows were inseminated in the worse period of the year (dry season) and were in fair condition of nutrition.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BONADONNA, T. — 1962 — Fisiopatología de la reproducción y fecundación artificial ganadera. Madrid, Salvat Editores, S. A.

- CHIEFFI, A. — MASOTTI, N. — 1959 — Ricerche sperimentali sopra nuovi mestruai per la diluizione del materiale seminale dei bovini. II. L'utilizzazione dell'acqua di cocco (*Cocos nucifera*) come mestruo diluente. *Zootecn. e Vet.*, 14(3):95-103
- CHIEFFI, A. — MASOTTI, N. — 1959 — Ricerche con nuovi mestruai per la conservazione dello sperma dei bovini. III. Spremuta di pomodori come base per la preparazione di liquido diluente dello sperma bovino. *Zootecn. e Vet.*, 14 (5-6): 174-176
- CHIEFFI, A. — REIS, J. M. — 1960 — Ricerche su nuovi mestruai diluitori del materiale seminale di toro. IV. Modificazioni della tecnica di preparazione del mestruo tuorlo d'uovo-succo di pomodoro (Geto). *Zootecn. e Vet.*, 15 (3-4): 61-62
- NORMAN, C. — JOHNSON, C. E. — PORTERFIELD, I. D. — 1958 — Livability of bovine spermatozoa at room temperatures in a coconut milk-citrate-calcium carbonate diluent. *J. Dairy Sci.*, 41 (5): 733
- NORMAN, C. — JOHNSON, C. E. — PORTERFIELD, I. D. — DUNBAR, R. S. — 1959 — Coconut milk — This new semen extender may revolutionize the artificial breeding industry. *Sci. Bull.*, 426 (1-2): 10-11, 18