

3. Pub. 109/90

# Congelabilidade do Sêmen de Carneiros Exóticos, Especializados Para Corte e Mantidos em Região Semi-Árida

SP 3323

Rui Machado, Aurino A. Simplicio

## Introdução

O uso comercial da inseminação artificial nos programas de melhoramento genético ovino a serem desenvolvidos no Nordeste do Brasil poderá depender da disponibilidade de doses de sêmen congelado de carneiros de raças exóticas, especializadas para corte. Neste contexto, foi desenvolvido este estudo, visando determinar alguns índices da congelação do sêmen de carneiros mantidos em região semi-árida.

## Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido na EMBRAPA-CNPC, localizada numa região semi-árida, sem variação fotoperiódica significativa e tendo estações climáticas bem definidas, como seca e chuvosa. A temperatura média anual é de 28° C e a umidade relativa do ar é de 69%. Os valores da precipitação pluvial médios atingem 700 mm/ano. Foram utilizados quatro carneiros adultos, sendo um Hampshire Down, um Ile-de-France, um Texel e um Santa Inês, o qual serviu como controle. O manejo dos animais foi semi-intensivo com suplementação concentrada durante a época seca do ano. Havendo ainda, tosquiagens periódicas, controle do peso vivo e acesso permanente a abrigo sombreado. Os quatro reprodutores foram submetidos a coletas de sêmen periódicas, a intervalos variáveis, em média de oito dias. A coleta de sêmen era realizada pela manhã, através de uma vagina artificial acoplada ao tubo coletor graduado em décimos de mililitro. Como manequim utilizou-se uma fêmea ovariectomizada e estrogonada pela aplicação intramuscular de 2,0 mg de Cipionato de Estradiol 36 horas pré-coleta.

Foram processados 60 ejaculados para congelação, sendo 27 do carneiro Santa Inês, nove (09) do Hampshire Down, dezesseis (16) do Ile-de-France e oito (08) do Texel, avaliados consoante Fonseca et al. (1992), calculando-se então:

número de espermatozoides processáveis ( $\times 10^9$ ) - produto entre o volume, a concentração e a motilidade individual progressiva inicial;

doses produzidas ( $N^0$ ) - razão entre espermatozoides processáveis e  $100 \times 10^6$  ( $N^0$  mínimo de espermatozoides por dose de sêmen ovino, exigido pelo Ministério da Agricultura para inseminação artificial intra-uterina);

número de doses aprovadas ( $N^0$ ) - computam-se apenas as doses cujas partidas atingiram, pelo menos, MIPD = 40% e VIGD = 3,0 ;

eficiência de congelação (%) - é a razão entre o número de ejaculados aproveitados e o número de ejaculados submetidos à congelação; e

eficiência de produção (%) - é a razão entre doses aprovadas e doses produzidas.

Os procedimentos de congelação seguiram o protocolo descrito por Machado & Simplicio (1990) baseado no uso do diluidor Citrato-Gema com 4% de glicerol e adicionado de antibióticos de amplo espectro. A taxa de diluição adotada era calculada de tal maneira a obter-se uma concentração de  $200 \times 10^6$  espermatozoides/ml de sêmen diluído. O material era resfriado, em câmara fria, até +4° C e após 120 minutos de equilíbrio, o sêmen era congelado em vapores de Nitrogênio líquido ( $N_2$  liq) a -79° C, por oito minutos, em rampa horizontal distando 5,0 cm da coluna de  $N_2$  liq. Para o envase usou-se palheta média de 0,5 ml devidamente identificada e selada com álcool polivinílico. A seguir a amostra era estocada em botijão criobiológico a -196° C e a descongelação ocorria, em média, 21 dias após a congelação, utilizando-se da imersão da palheta em água aquecida a 38° C, durante 30 segundos.

Os achados foram submetidos à análise de variância segundo o modelo infra e quando necessário, submetidos ao teste SNK ou LSD. As variáveis quantificadas em porcentagem sofreram transformação prévia pela função arco seno (Steel & Torrie 1980).

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + S_j + RS_{ij} + E_{ijk}$$

$Y_{ijkl}$  = Variáveis quantificadas do sêmen

$\mu$  = Média geral;

$R_i$  = efeito da iésima raça do reprodutor,  $i = 1,2,3,4,5$ ;

$S_j$  = efeito da jésima época de coleta,  $j = 1,2$ ;

$RS_{ij}$  = efeito da interação raça do reprodutor vs. época da coleta,  $ij = 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10$ ;

$E_{ijkl}$  = erro experimental

PROCI-1996.00042

MAC

1996

SP-1996.00042

## Resultados e Discussão

O efeito da raça sobre a performance de congelação do sêmen esta apresentado na Tabela 1. O comportamento pré-congelação foi considerado compatível para submeter as amostras de sêmen ao processo de congelação.

TABELA 1- Efeito da raça do reprodutor sobre a performance da congelação do sêmen ovino. Médias pelos mínimos quadrados.

|  | Raça                      |                           |                          |                          | CV (%) |
|--|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------|
|  | Santa Inês                | Hampshire Down            | Ile-de-France            | Texel                    |        |
| N  | 27                        | 09                        | 16                       | 08                       | -      |
| Volume (ml)                                | 0,85 ± 0,09 <sup>b</sup>  | 0,93 ± 0,19 <sup>b</sup>  | 1,56 ± 0,12 <sup>a</sup> | 0,87 ± 0,19 <sup>b</sup> | 44,9   |
| concentração ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ) | 4,41 ± 0,21 <sup>b</sup>  | 5,62 ± 0,44 <sup>a</sup>  | 5,73 ± 0,28 <sup>a</sup> | 4,27 ± 0,45 <sup>b</sup> | 23,5   |
| Total ejaculado ( $\times 10^9$ )          | 3,86 ± 0,59 <sup>b</sup>  | 5,23 ± 1,21 <sup>b</sup>  | 9,07 ± 0,78 <sup>a</sup> | 3,46 ± 1,24 <sup>b</sup> | 56,9   |
| MIP <sub>i</sub> <sup>1</sup> (%)          | 69,9 ± 2,98               | 75,3 ± 6,10               | 65,8 ± 3,92              | 58,3 ± 6,21              | 22,7   |
| sptz. process. ( $10^9$ )                  | 2,81 ± 0,47 <sup>b</sup>  | 3,98 ± 0,97 <sup>b</sup>  | 6,23 ± 0,62 <sup>a</sup> | 2,01 ± 0,98 <sup>b</sup> | 65,6   |
| MIP <sub>c</sub> <sup>2</sup>              | 23,6 ± 2,98 <sup>a</sup>  | 31,1 ± 6,10 <sup>a</sup>  | 33,3 ± 3,93 <sup>a</sup> | 13,3 ± 6,22 <sup>a</sup> | 60,7   |
| Vigor <sub>c</sub>                         | 1,70 ± 0,19 <sup>a</sup>  | 2,17 ± 0,39 <sup>a</sup>  | 2,13 ± 0,25 <sup>a</sup> | 1,16 ± 0,39 <sup>a</sup> | 55,6   |
| Doses produzidas                           | 28,1 ± 4,68 <sup>b</sup>  | 39,8 ± 9,63 <sup>b</sup>  | 62,4 ± 6,21 <sup>a</sup> | 20,1 ± 9,81 <sup>b</sup> | 65,6   |
| Doses aprovadas                            | 5,71 ± 0,99 <sup>ab</sup> | 7,42 ± 2,02 <sup>ab</sup> | 10,2 ± 1,30 <sup>a</sup> | 3,18 ± 2,01 <sup>b</sup> | 77,7   |
| Eficiência de congelação (%)               | 29,6                      | 33,3                      | 43,7                     | 12,5                     |        |
| Eficiência de produção (%)                 | 20,3                      | 18,6                      | 16,3                     | 15,8                     |        |

<sup>1</sup> MIP<sub>i</sub> = Motilidade individual progressiva inicial;

<sup>2</sup> MIP<sub>c</sub> = Motilidade individual progressiva pós-congelação/reanimação;

<sup>3</sup> Dose para inseminação artificial intra-uterina =  $100 \times 10^6$  espermatozoides;

Valores sobrescritos com letras distintas, na mesma coluna, diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ) pelo teste SNK.

A Tabela 2 apresenta o sumário da análise de variância. A raça influenciou ( $P < 0,01$ ) o volume, a concentração, o total de espermatozoides ejaculado, o numero de espermatozoides processáveis, o numero de doses produzidas ( $P < 0,01$ ) e ainda, a motilidade individual progressiva pós-congelação e o numero de doses aprovadas ( $P < 0,05$ ). Os efeitos da época sobre as características do sêmen submetido à congelação foram significativos apenas para a concentração ( $p < 0,01$ ).

TABELA 2. Análise de variância das características do sêmen submetido à congelação, Sobral, Ceará, 1989.

|  | Fonte de variação |              |              |                 |
|--|-------------------|--------------|--------------|-----------------|
|  | época (gl=1)      | raça (gl=3)  | ep#ra (gl=3) | Resíduo (gl=52) |
| Volume (ml)                                | 0,3883            | 1,7478**     | ns           | 0,2391          |
| concentração ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ) | 15,1285**         | 7,4593**     | ns           | 1,2465          |
| Total ejaculado ( $\times 10^9$ )          | ns                | 95370,1753** | ns           | 9238,4397       |
| MIP <sub>i</sub> <sup>1</sup> (%)          | ns                | ns           | ns           | 95,0252         |
| sptz. processáveis ( $10^9$ )              | ns                | 44736,2589** | ns           | 5820,8151       |
| MIP <sub>c</sub> <sup>2</sup>              | ns                | 691,5819 *   | ns           | 232,2635        |
| Vigor <sub>c</sub>                         | ns                | ns           | ns           | 0,9487          |
| Doses produzidas                           | ns                | 220,9197**   | ns           | 28,7447         |
| Doses aprovadas                            | ns                | 4,6306 *     | 4,1953*      | 1,2677          |

ns = não significativo; \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ;

A variação na motilidade individual progressiva e no vigor pós-congelação não foi significativa ( $p > 0,05$ ), apesar dos valores numéricos distintos entre raças, condição esta, possivelmente ligada à pequena amostragem. No entanto, uma tendência de superioridade é observada para os exemplares Hampshire Down e Ile-de-France. Diferenças "entre raças" na motilidade pós-congelação haviam sido descritas por Colas (1983) e Cochran et al. (1985).

O número de doses aprovadas teve padrão distinto ( $p < 0,05$ ) do numero de doses produzidas, refletindo em eficiências dispare de congelação e de produção (Tabela 1). Assim, aqueles ejaculados de alta produção quantitativa, nem sempre obtiveram índices satisfatórios de recuperação espermática, traduzida em motilidade individual progressiva e vigor pós-congelação. A raça Ile-de-France, apesar de proporcionar, em média, 62,4 doses por ejaculado e consignar, em

média, a mais elevada recuperação espermática, não traduziu este potencial para a produção de doses aprovadas, pois infelizmente os melhores ejaculados produziram o menor número de doses para aquela raça. Neste contexto é conveniente se observar o grau de dispersão entre as medidas - Coeficiente de Variação (Tabela 2) para cada característica observada.

A época de congelamento e a interação época vs. raça não afetaram ( $p > 0,05$ ) a motilidade pós-congelamento (Tabelas 1 e 2) em contraste com os achados de Menger et al. (1986) e Cochran et al. (1985), respectivamente.

Os valores médios da motilidade individual progressiva pós-congelamento foram superiores aqueles obtidos por Menger et al. (1986) que oscilaram entre 12,2 e 18,7% e superiores, em geral, aos relatados por Cochran et al. (1985) que observaram valores entre 6,0 e 36,2%. No entanto, Mies Filho et al. (1981) alcançaram média de 43,9% usando machos Corriedale em regime sincopado de iluminação.

A eficiência de congelamento está aquém dos valores reportados por Mies Filho et al. (1981) e mantém coerência com o reporte de Machado & Simplicio (1990), que descreve aproveitamento de 25,0% de ejaculados de carneiros Santa Inês. Responsabilizando a não seleção de doadores pela baixa eficiência.

Os modestos resultados alcançados na recuperação espermática e no aproveitamento de ejaculados podem ter como causas as deficiências intrínsecas à tecnologia de criopreservação do sêmen ovino (Colas 1983) ou mesmo, a não seleção dos machos doadores de sêmen (Machado & Simplicio 1990). Neste contexto, cumpre lembrar que devido à pequena amostragem de carneiros e de ejaculados, os efeitos das variações idiossincráticas podem ter tido sua magnitude ampliada.

### Conclusões

- A seleção de reprodutores Santa Inês, Hampshire Down, Ile-de-France e Texel "dentro das respectivas raças", associada aos avanços na tecnologia de processamento do sêmen ovino poderá aumentar a eficiência de congelamento do sêmen de ovinos destinados a programas de melhoramento genético no Nordeste do Brasil.

### Referências Bibliográficas

- COCHRAN, R.C.; JUDY, J.K.; PARKER, C.F.; HALLFORD, D.M. Prefreezing and post-thaw semen characteristics of five ram breeds collected by electroejaculation. *Theriogenology*, v.23, n.5, p.431-40, 1985.
- COLAS, G. Factors affecting the quality of ram semen. In: EAST SCHOOL AGRICULTURAL SCIENCES UNIVERSITY OF NORTHINGHAM, 35, Northingham, 1983. *Proceedings*. Northingham: University of Northingham, 1983. p.453-465.
- FONSECA, V.O.; VALE FILHO, V.R.; MIES FILHO, A.; ABREU, J.J. **Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. 1992. 79p.
- MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Inseminação artificial em ovinos deslanados usando o sêmen congelado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27, 1990, Campinas. *Anais*. Piracicaba: FEALQ, 1990. p.420.
- MENGER, H.; NEUBERT, L.; WENIG, H. Der Einfluss der jahereszeit auf die qualitat von schafbocksperma und seine in-vitro und in vivo konservieren fahigkeit. *Monatshefte fur veterinarmedizin*, v.41, n.2, p.55-9, 1986.
- MIES FILHO, A.; GIRÃO, R.N.; DUTRA, J. Congelamento de sêmen ovino na primavera. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.5, n.3-4, p.27-37, 1981.
- STEELE, R.G.D.; TORRIE, J.H. *Principles and Procedures in Statistics. A biometrical Approach*. New York: McGraw-Hill, 1980. 134 p.