

NOTA PRÉVIA/SHORT COMMUNICATION

Inseminação artificial em cabras com sêmen congelado: resultados preliminares

Artificial insemination in goats with frozen semen: preliminary results

Silvia FERRARI¹; Frederico LEINZ²; Valquíria Hyppolito BARNABE¹

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Valquíria Hyppolito Barnabe
Departamento de Reprodução
Animal
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP
Cidade Universitária Armando de
Salles Oliveira
Av. Orlando Marques de Paiva, 87
05508-000 – São Paulo – SP
e-mail: vhbarnab@usp.br

1 - Departamento de Reprodução
Animal da Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da USP – SP
2 - Instituto de Zootecnia, Itapetininga – SP

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o sêmen de caprinos congelado em diluidor à base de TRIS contendo baixa quantidade de gema de ovo, foi feita a análise da motilidade retilínea e progressiva logo após o congelamento e após 4 anos de estocagem em nitrogênio líquido, resultando respectivamente em $38,2 \pm 7,47\%$ e $31,43 \pm 13,55\%$. Foi feita a sincronização do cio de 16 cabras com esponjas intravaginais impregnadas com progesterona e aplicações de PMSG no nono dia. No 11º dia as esponjas foram retiradas e após 46 horas foi feita a inseminação artificial com palhetas estocadas por 4 anos. Houve 31,2% de não-retorno ao cio. O diluidor à base de TRIS contendo baixa quantidade de gema de ovo se mostrou eficiente quanto à preservação dos espermatozoides quando avaliados *in vitro* através da motilidade retilínea e progressiva e *in vivo* através da inseminação artificial.

UNITERMOS: Sêmen; Congelamento; Caprinos; Inseminação artificial.

Com a publicação do trabalho de Roy⁸, referente ao papel da glândula bulbo uretral na secreção de enzimas que em contato com a gema de ovo do diluidor produziria substâncias tóxicas ao espermatozoide de caprinos, levantou-se uma questão que vem sendo estudada até os dias de hoje.

Iritani; Nishikawa⁴, comprovaram a presença da enzima lecitinase A como integrante da secreção da glândula bulbo uretral que participaria neste processo, e Aamdal *et al.*¹ discutiram a formação da lisolecitina como resultado da hidrólise da lecitina da gema de ovo pela lecitinase A, causando a morte dos espermatozoides.

O espermatozoide da espécie caprina é muito suscetível ao choque térmico e, portanto, adequados níveis de gema de ovo são necessários para o sucesso da estocagem do sêmen⁹.

No sentido de aumentar a viabilidade do sêmen caprino congelado em diluidor contendo gema de ovo em sua composição, Ritar; Salamon⁷ afirmaram que a concentração de 1,5% de gema de ovo no diluidor à base de TRIS confere proteção espermática e não produz efeitos tóxicos ao espermatozoide.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o sêmen de caprinos congelado em diluidor à base de TRIS-gema de ovo através da análise da motilidade retilínea e progressiva espermática após 4 anos de estocagem em nitrogênio líquido e da inseminação artificial de cabras com cio sincronizado.

Foram efetuadas 50 colheitas de sêmen de um bode da raça Saanen pertencente à criação de caprinos do Campus de Piras-

sununga, durante os meses de fevereiro a junho de 1992 usando vagina artificial.

Foi usado diluidor à base de TRIS descrito por Evans; Maxwell² a fim de congelar o sêmen. As palhetas foram avaliadas quanto à motilidade retilínea e progressiva espermática após o congelamento e as amostras espermáticas cuja motilidade retilínea e progressiva não alcançou 30% foram descartadas. As demais amostras foram descongeladas e avaliadas 4 anos depois quanto à motilidade retilínea e progressiva dos espermatozoides.

Em março de 1996, 16 cabras adultas das raças Anglonubiana e Saanen provenientes do Instituto de Zootecnia de Itapetininga-SP foram submetidas à sincronização do cio através de colocação de esponjas intravaginais impregnadas com progesterona, que foram mantidas por 11 dias. No nono dia foi feita a aplicação de 40 mg de prostaglandina e 250 UI de PMSG. As esponjas intravaginais e o PMSG foram adquiridos da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Pelotas, RS. Após 46 horas da retirada da esponja, foi feita a inseminação artificial, usando as palhetas estocadas por 4 anos.

Foi usada a análise de variância ANOVA para a comparação entre a motilidade retilínea e progressiva dos espermatozoides logo após e 4 anos após o congelamento. Após o congelamento, foi encontrada a média da motilidade retilínea e progressiva de $38,2 \pm 7,47\%$. Após 4 anos de estocagem em nitrogênio líquido, a análise da motilidade retilínea e progressiva dos espermatozoides mostrou

a média de $31,43 \pm 13,55\%$, não havendo diferença estatisticamente significativa entre as médias. Todas as cabras submetidas ao tratamento de sincronização do cio responderam ao tratamento, apresentando cio após a retirada da esponja. Das 16 inseminações, 6 foram intracervicais profundas, 2 intracervicais superficiais e 8 intra-uterinas. Onze cabras retornaram ao cio, o que representa 31,2% de não-retorno ao cio. Nasceram 4 machos e 2 fêmeas das 5 cabras que pariram, resultando em 120% de prolificidade.

Pintado *et al.*⁶ analisaram a motilidade retilínea e progressiva das amostras seminais congeladas em diluidor à base de TRIS após 1 ano de congelamento, não encontrando diferenças estatisticamente significativas em relação à perda da motilidade ao longo do tempo de estocagem. No experimento em questão também não foi encontrada diferença estatisticamente significativa nos resultados de motilidade retilínea e progressiva logo após e 4 anos após a estocagem das palhetas em nitrogênio líquido, confirmando a eficácia em relação à preservação do sêmen com diluidor à base de TRIS com baixa porcentagem de gema de ovo em sua composição.

Machado; Simplício⁵ encontraram taxa de prenhez de 46% quando inseminaram com sêmen congelado cabras submetidas a tratamento de sincronização do cio. Esse resultado é superior ao encontrado por nós, talvez devido ao fato de Simplício¹⁰ afirmar que o local de deposição do sêmen tem relevante importância na taxa de fertilidade, sendo que os piores resultados são obtidos quan-

do a inseminação artificial é feita na vagina e os melhores alcançados quando ela é conduzida intra-uterinamente.

Vários fatores devem ser discutidos em relação aos resultados das inseminações artificiais por nós efetuadas. O primeiro se refere ao tratamento hormonal utilizado, que se mostrou relativamente eficiente quanto à sincronização do cio. As 16 cabras tratadas apresentaram cio, porém com algum intervalo de horas entre eles, pois ao realizarmos as inseminações verificamos ótima abertura de cérvix em 8 animais, possibilitando inseminações intra-uterinas, porém nas demais cabras não havia boa abertura da cérvix, dificultando a inseminação. O tratamento hormonal provocou baixa taxa de prolificidade de 120% se comparada à taxa de 180% relatada por Gonzales; Stagnaro³.

A taxa de não-retorno ao cio (31,2%) não pode ser considerada definitiva, já que o local de deposição do sêmen foi variado e o número de cabras inseminadas foi pequeno, porém é indicativo da possibilidade do uso do diluidor à base de TRIS no congelamento do sêmen de caprinos sem a retirada do plasma seminal e sua utilização na inseminação artificial após 4 anos de armazenamento. Podemos concluir que o diluidor à base de TRIS contendo baixa quantidade de gema de ovo se mostrou eficiente quanto à preservação dos espermatozoides de caprinos por 4 anos de estocagem em nitrogênio líquido, quando avaliado *in vitro*, através da análise da motilidade retilínea e progressiva dos espermatozoides, e *in vivo* através da inseminação artificial com sêmen congelado.

SUMMARY

Aiming to evaluate frozen goat semen in TRIS diluent with low egg yolk addition, progressive motility was evaluated soon after freezing and again 4 years later, resulting in $38.2 \pm 7.4\%$ and $31.4 \pm 13.5\%$, respectively. Sixteen goats were oestrus synchronized through progesterone impregnated intravaginal sponges followed by PMSG injection on day 9. Vaginal sponges were withdrawn on day 11, with goats being artificially inseminated 46 hours later with semen frozen in straws and stocked during 4 years in liquid nitrogen. The nonreturn rate attained 31.2%. TRIS diluent with low egg yolk addition was considered as efficient in relation to frozen sperm evaluated both *in vitro* through progressive motility as *in vivo* through artificial insemination.

UNITERMS: Semen; Freezing; Goat; Artificial insemination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AAMDAL, J.; LYGSET, O.; FOSSUM, K. Toxic effect of lysolecithin on sperm, a preliminary report. **Nordisk Veterinaermedicin**, v.17, p.633-4. Nov. 1965.
- 2- EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. **Salamon's artificial insemination of sheep and goats**. North Ryde : Butterworths Pty, 1987.
- 3- GONZALES STAGNARO, C. Control hormonal del ciclo estral en cabras criollas. II. Inseminación artificial y reproducción programada. **Veterinaria y Zootecnia**, v.26, n.72, p.25-55, 1974.
- 4- IRITANI, A.; NISHIKAWA, Y. Studies on egg yolk coagulating enzyme in goat semen. VI. On the chemical properties of the ejaculated semen and the secretion of accessory organs in the goat. **Japanese Journal of Animal Reproduction**, v.10, p.44-51, 1961.
- 5- MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. **Tecnologia da conservação de sêmen caprino e inseminação artificial**. Sobral, CE.: EMBRAPA-CNPC, 1988. (Relatório Técnico de Projeto de Pesquisa)
- 6- PINTADO, B.; PEREZ, B.; GIL, L. Efecto del método de congelación sobre la calidad *in vitro* del semen de macho cabrío Verato. **Avances en Alimentación y Mejora Animal**, v.31, n.6, p.269-72, 1991.
- 7- RITAR, A.J.; SALAMON, S. Effect of seminal plasma and its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat. **Australian Journal of Biological Science**, v.35, p.305-12, 1982.
- 8- ROY, A. Egg yolk coagulating enzyme in the semen and cowper's gland of the goat. **Nature**, v.179, p.318-9, 1957.
- 9- SAHANY, K.L.; ROY, A. A note on seasonal variations in the occurrence of abnormal spermatozoa in different breeds of sheep and goat under tropical conditions. **Indian Journal of Animal Science**, v.42, n.7, p.501-4, 1972.
- 10- SIMPLÍCIO, A.A. Inseminação artificial na espécie caprina. **Informe Agropecuário**, v.13, n.148, p.30-5, 1987.

Recebido para publicação: 23/05/1997
Aprovado para publicação: 29/12/1997