

MORFOLOGIA DO ESPERMATOZOIDE OVINO APÓS RESFRIAMENTO EM DILUENTES À BASE DE ÁGUA DE COCO DURANTE O PERÍODO CHUVOSO E SECO NO NORDESTE DO BRASIL

(Morphology of ovine spermatozoa after cooling in extenders based in coconut water during the rainy and dry season in the Northeast of Brazil)

Emmanuelle Lima de FIGUEIRÊDO^{1*}; José Ferreira NUNES²; Ana Cláudia Nascimento CAMPOS³; Priscila Teixeira de SOUZA⁴

¹Centro Universitário INTA. Rua Antônio Rodrigues Magalhães, 359. Dom Expedito, Sobral/CE. CEP: 62.050-100; ²Universidade Estadual do Ceará; ³Universidade Federal do Ceará; ⁴Universidade Federal do Cariri. *Email: lukafig@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of this work went to evaluate the spermatic morphology of ram semen cooled to 4 °C *in nature* (INCW) and in powdered coconut water (ACP-102[®]) during the rainy and dry season in the Northeast of Brazil. The semen of four rams was collected, divided into two fractions and diluted in INCW and ACP-102[®]. The samples were conditioned in refrigerator to 4 °C and after 2, 24 and 48 hours of cooling were submitted at thermo resistant test (TT). Semen slides were executed in the beginning and in the end of TT to evaluation of the spermatic morphology (SM). The SM parameters, within different preservation times (2, 24 and 48h) and extenders (INCW and ACP-102[®]), were expressed in media and standard deviation (SD) and submitted to Tukey test ($p < 0.05$). According to the diluted samples in ACP-102[®], was observed a percentage increase of morphology normal spermatozoon in the rainy season as was verified in the dry season. In conclusion, the ACP-102[®] extender present good preserve capacity. Agreed with this study, the raining season did not have influence on the characteristics of spermatic morphology.

Key words: Semen, ram, preservation.

INTRODUÇÃO

No semi-árido nordestino, os eventos climatológicos podem ser definidos em dois: época seca e chuvosa. Estas delimitações estacionais determinam a disponibilidade de alimento, o que influencia diretamente na capacidade reprodutiva (SIMPLÍCIO, 2001). Sabe-se que a reprodução é fator determinante para a eficiência dos sistemas de produção, sendo necessária a garantia de animais saudáveis. Desta maneira, a utilização de indicadores quantitativos e qualitativos do sêmen, além da avaliação metabólica do sangue desses animais é uma ferramenta satisfatória para a avaliação de rebanhos, atuando como auxílio no diagnóstico de doenças e prevenindo possíveis prejuízos na produção (GRANADOS, 2006).

Valle, Fuentes e Puerta (2005) demonstraram que elevadas temperaturas ambientais podem interferir negativamente na qualidade espermática de ruminantes, sendo a motilidade individual progressiva e o percentual de células morfológicamente anormais as características seminais mais afetadas.

Como agravante, após o resfriamento ocorrem danos nas células espermáticas que reduzem a motilidade dos espermatozoides. A inseminação artificial é uma prática amplamente utilizada na reprodução animal, no entanto, requer condições específicas de estocagem do sêmen. Na tentativa de melhorar a qualidade do sêmen ovino resfriado diversos diluentes têm sido testados, dentre eles, a água de coco *in natura* que apresentou um

desempenho comparável a diluidores como o leite e que foi padronizada na forma de pó, o ACP-102[®], para uso na espécie ovina (SALGUEIRO *et al.*, 2002).

Dessa forma, a avaliação da morfologia espermática é um fator indispensável na determinação da qualidade do sêmen e do potencial fecundante dos espermatozoides, pois alterações na anatomia celular estão diretamente correlacionadas à baixa fertilidade do reprodutor. Para o processo de fecundação é necessário à capacitação espermática, a ligação à zona pelúcida, a penetração no ovócito e a fusão com o oolema (SOARES e GUERRA, 2009), o que gera a necessidade de espermatozoides saudáveis e vigorosos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a morfologia espermática do sêmen ovino resfriado a 4 °C por até 48 horas em diluentes à base de água de coco, durante a época chuvosa e seca no Nordeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de execução

O experimento foi conduzido no Laboratório de Tecnologia do Sêmen Caprino e Ovino (LTSCO) da Universidade Estadual do Ceará, em Fortaleza/CE que está situada em uma planície litorânea a 3°45'47" de latitude sul e 38°30'37" de longitude oeste.

Animais experimentais e período de coletas de sêmen

Durante as épocas chuvosa (fevereiro a abril) e seca (outubro a dezembro) quatro ovinos da raça Santa Inês tiveram seu sêmen coletado por meio de vagina artificial (48 ejaculados por época).

Diluentes testados

Foram testados os diluidores: ACIN-50mL de água de coco *in natura* + 50mL de solução de citrato de sódio a 2,5% e ACP-102[®] – água de coco em pó diluída em 100mL de água destilada, acrescidos de 3,0% de gema de ovo. Após a colheita, o sêmen de cada reprodutor foi dividido em duas alíquotas que foram diluídas em ACIN e ACP-102[®] e resfriadas (4 °C) por 2, 24 e 48h e posteriormente submetidas ao teste de termorresistência por até 120 minutos (TTR) em banho-maria (37 °C).

Avaliação da morfologia espermática

Esfregaços de sêmen corados com uma solução à base de eosina 1%, nigrosina 3% e citrato de sódio 3% foram realizados no término da incubação para posterior observação de 200 células por meio de microscopia óptica no aumento de 1000x. As anormalidades foram classificadas em: anormalidade de cabeça (AC), defeito de peça intermediária (DPI), gota citoplasmática proximal (GCP), gota citoplasmática distal (GCD) e anormalidade de flagelo (AF), segundo Colas (1980).

Análise Estatística

Os parâmetros de morfologia espermática foram expressos em média e desvio padrão e avaliados pela ANOVA utilizando-se o modelo GLM (General Linear Model). As variáveis

independentes utilizadas foram: tempo de conservação (2, 24 e 48h), tipo de diluente (ACIN e ACP-102[®]) e época do ano (chuvosa e seca). Em seguida, foram submetidos ao teste Tukey utilizando-se um delineamento em parcelas subdivididas (comparações triplas). Foi utilizado um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os ejaculados foram considerados repetições para cada tempo de conservação e diluidor testado (The SAS System, 8.0).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a época seca verificou-se redução no número de células normais após 48h de resfriamento (Tab. 01). Estudando a produção de sêmen ovino em diferentes épocas do ano, Monreal *et al.* (2012) no Mato Grosso do Sul, observaram a influência da época do ano sobre a porcentagem de espermatozoides anormais. Frazão Sobrinho *et al.* (2014) também verificaram influência da época do ano sobre os parâmetros espermáticos, como foi constatado neste estudo, divergindo dos resultados obtidos por Freitas e Nunes (1992), que não verificaram diferença entre as épocas seca e chuvosa do Nordeste brasileiro.

Tabela 01: Espermatozoides normais (N), anormalidades de cabeça (AC) e de flagelo (AF) do sêmen ovino diluído em ACIN e ACP-102[®], com tempo de resfriamento (TR) de até 48 horas e submetido a teste de termorresistência (TTR) durante as épocas chuvosa e seca.

| Época do ano | TR | Diluyente | Morfologia Espermática | | |
|--------------|-----|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------|
| | | | N | AC | AF |
| Chuvosa | 2h | ACIN | 186,82±8,99 | 5,30±4,34 | 7,87±8,33 |
| | | ACP-102 [®] | 187,69±8,90 | 5,16±5,43 | 7,13±7,66 |
| | 24h | ACIN | 185,02±10,91 | 5,92±4,89 | 9,05±9,85 |
| | | ACP-102 [®] | 186,85±10,48 | 5,60±5,90 | 7,54±8,63 |
| | 48h | ACIN | 183,45±9,54 | 4,76±4,17 | 11,78±9,88 |
| | | ACP-102 [®] | 186,31±8,35 ^A | 4,76±3,72 ^A | 8,92±8,47 |
| Seca | 2h | ACIN | 185,05±15,65 | 3,16±3,32 | 11,78±14,77 |
| | | ACP-102 [®] | 187,21±11,16 ¹ | 4,43±5,44 ¹ | 8,34±8,46 |
| | 24h | ACIN | 183,50±16,31 | 4,29±4,10 | 12,20±15,08 |
| | | ACP-102 [®] | 185,68±4,35 ¹ | 5,86±8,99 ¹ | 8,44±9,85 |
| | 48h | ACIN | 176,83±39,73 | 3,27±3,38 ^a | 11,56±13,84 |
| | | ACP-102 [®] | 174,17±40,62 ^{2,B} | 9,39±14,64 ^{b,2,B} | 8,09±8,36 |

^{a,b}letras diferentes, há diferença significativa entre os diluentes ACIN e ACP-102[®] (comparação entre linhas);

^{1,2,3}números diferentes, comparação entre os tempos de resfriamento 2, 24 e 48 h (comparação entre linhas);

^{A,B}letras diferentes, comparação entre as épocas chuvosa e seca (comparação entre linhas).

O efeito do diluente, da época do ano e do tempo de conservação só foi verificado a partir de 48h de resfriamento. O número de espermatozoides com anormalidade de cabeça apresentou aumento durante a época seca, após 48h de resfriamento, indicando um processo de desestabilização da estrutura das células espermáticas, enquanto o número de anormalidades de flagelo manteve-se estável. Toazza (2018) identificou que existe influência da sazonalidade sobre a criotolerância espermática de carneiros leiteiros, tendo maior sobrevivência no outono, em relação ao verão, indicando uma possível influência das temperaturas mais elevadas. Embora tenha sido observada essa diferença estatística quanto à

anormalidade de cabeça, o número total de defeitos ficou dentro dos padrões estipulados para sêmen fresco ovino, pelo CBRA (2013).

O diluente ACP-102[®], assim como a água de coco *in natura* apresenta boa capacidade conservadora, pois os valores observados no sêmen ovino resfriado por até 48h durante o TTR, foram bem semelhantes. Castro (2011), ao estudar a adição de antioxidante ao ACP-102[®] verificou que este diluente mostrou maior eficácia quando utilizado sem a adição de cisteína, mantendo os parâmetros de motilidade viáveis até 48 horas de conservação a 5 °C.

CONCLUSÕES

Concluiu-se que o diluente ACP-102[®] apresenta boa capacidade conservadora, pois os valores observados no sêmen ovino resfriado por até 48h durante o TTR, foram próximos àqueles obtidos com o ACIN. A época chuvosa demonstrou exercer menor influência sobre as características de morfologia espermática, o que não impede a coleta do sêmen ovino também na época seca, já que o percentual de anormalidades permaneceu dentro dos níveis recomendados pelo CBRA (2013).

REFERÊNCIAS

- CASTRO, E.V. Adição de antioxidante ao sêmen ovino diluído em água de coco em pó ACP-102[®] e resfriado a 5 °C por 48 horas. 2011. 49p. (Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, 2011.
- COLAS, G. Variations saisonnières de la qualité du sperm chez le bélier Ile-de-France I. Etude de la morphologie cellulaire et de la motilité massale. *Reproduction Nutrition Development*, Jouy-en-Josas, v.20, n.6, p.1789-1799, 1980.
- CBRA. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3^a ed., Belo Horizonte: CBRA, 2013, 104p.
- FRAZÃO SOBRINHO, J.M.; CASTELO BRANCO, M.A.; SOUSA JÚNIOR, A.; NASCIMENTO, I.M.R.; MOTA, L.H.C.M.; CARVALHO, Y.N.T.; FERREIRA, S.B.; COSTA, D.M.N.; MORAES JÚNIOR, F.J.; SOUZA, J.A.T. Características do sêmen de carneiros Dorper, Santa Inês e sem padrão racial definido, pré e pós-congelamento, nos períodos chuvoso e seco. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.66, n.4, p.969-976, 2014.
- FREITAS, V.J.F.; NUNES, J.F. Parâmetros andrológicos e seminais de carneiros deslanados criados na região litorânea do Nordeste Brasileiro em estação seca e chuvosa. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.16, n.3/4, p.95-104, 1992.
- GRANADOS, L.B.C.; DIAS, A.J.B.; SALES, M.P. Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos. Luis Bernabe Castillo Granados, Ângelo José Burla Dias e Monique Pessanha de Sales. 1^a ed., Campos dos Goytacazes, Projeto PROEX/UENF, 2006. 54p.

MILCZEWSKI, V.; KOZICKI, L.E.; NEVES, J.P. Viabilidade do sêmen ovino refrigerado em diferentes diluentes, *Archives of Veterinary Science*, v.5, p.29-33, 2000.

MONREAL, A.C.D.; ANJOS, D.S.; SOUZA, A.S.; SOUZA, M.I.L. Morfologia espermática de carneiros nativos. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, v.15, n.1, p.19-23, 2012.

SALGUEIRO, C.C.M.; NUNES, J.F.; OLIVEIRA, K.P.L.; VIEIRA, V.E.; GONDIM, J.M.; MATEOS-REX, E. Utilização de diluentes à base de água de coco “in natura” e em pó na inseminação artificial programada de cabras. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Supl.2, n.5, p.96-8, 2002.

SOARES, A.T.; GUERRA, M.M.P. Efeitos da criopreservação sobre a viabilidade espermática. *Tecnologia e Ciência Agropecuária*, v.3, n.2, p.53-63, 2009.

TOAZZA, R. Influência da sazonalidade nas características reprodutivas de carneiros de raças leiteiras. 2018. 83p. (Dissertação de Mestrado em Ciência Animal). Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, 2018.

VALLE, A.; FUENTES, A.; PUERTA, M. Influência de factores climáticos sobre las características seminales de toros Holstein y Pardo Suizo nacidos en el trópico. *Revista de la Facultad de Agronomía*, v.22, n.1, p.52-61, 2005.