



## **AValiação de parâmetros seminais de Garanhões da Raça Crioula fora da Estação Reprodutiva**

**HARTWIG, Felipe Pires<sup>1</sup>; SANTOS, Rodrigo Stauffert<sup>1</sup>; BIANCHI, Ivan<sup>2</sup>; NOGUEIRA, Carlos Eduardo Wayne<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Graduando Medicina Veterinária - UFPel*

<sup>2</sup> *M.V.Dr.Prof. Medicina Veterinária - UFPel*

### **1. INTRODUÇÃO**

A equideocultura está claramente crescendo em todo mundo, devido principalmente a importância dada atualmente ao cavalo na prática de diversos esportes e lazer, e não mais apenas no transporte e tração. O Brasil possui o quarto maior rebanho mundial de equinos ficando atrás somente dos Estados Unidos, China e México, montante este que propicia uma movimentação de R\$ 7,5 bilhões por ano, gerando 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos, números que demonstram a importância da atividade no país. A atividade está em franca ascensão visto que a receita com as exportações brasileiras de cavalos vivos cresceu 769% entre 1996 e 2005 (Junior, 2004).

Visando suprir as necessidades requeridas por este agronegócio, muitas pesquisas têm sido realizadas no intuito de desenvolver, aprimorar e difundir biotecnologias, dentre as quais a mais utilizada é a inseminação artificial (IA) por se mostrar a mais economicamente viável e de fácil implementação, além de ser base para realização de outras biotécnicas, como a transferência de embriões (Pimentel & Carneiro, 2008).

A IA é uma forma de propagação de material genético melhorado, oportunizando maior segurança para a égua e garanhão, além de evitar a transmissão de doenças infecciosas e o inconveniente de a égua ter que sair do estabelecimento. Além do mais tem se demonstrado que taxas de prenhes são similares ou até mesmo superiores comparando a utilização de IA com sêmen fresco ou resfriado em relação a monta natural (Samper et al., 1991). No entanto, utilizando-se sêmen criopreservado as taxas de prenhes são inferiores (Samper et al., 1991). Apesar dos benefícios proporcionados pela IA, algumas raças não utilizam a biotécnica devido a restrições por parte das associações, tais como o Puro Sangue Inglês e o Crioulo não permitem o registro de produtos oriundos de IA. .

Para se obter êxito em programas de IA deve-se levar em conta aspectos como manipulação correta do sêmen, manejo reprodutivo das éguas, qualidade do sêmen e influência do fotoperíodo (Samper, 2000). Visto isso tem se pesquisado a respeito de fatores que influenciam nas características do ejaculado. A fisiologia reprodutiva da espécie equina é influenciada pelo fotoperíodo positivo (Nagy et al., 2000). Durante o inverno onde o número de horas de luminosidade é menor, ocorre

diminuição da secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo devido a supressão feita pela melatonina, desta maneira a sazonalidade pode se tornar um fator relevante em relação a mudanças no padrão dos parâmetros seminais dos garanhões visto que na primavera e no verão a atividade funcional e endócrina testicular estão aumentados em relação ao outono e inverno (Hoffman & Landeck, 1999; Jannet et al., 2003)

O objetivo deste trabalho foi avaliar características seminais de garanhões da raça Crioula fora da estação reprodutiva tradicional.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados no experimento dois garanhões da raça Crioula em bom estado nutricional e sanitário, que se encontravam em centros de treinamento no município de Pelotas/RS. Estavam estabulados, com alimentação a base de alfafa, azevém cortado e suplementação concentrada. As coletas de sêmen foram feitas semanalmente durante os meses de maio a agosto de 2009, utilizando-se égua como manequim devidamente contida, na qual era aplicado Cipionato de Estradiol (E.C.P.<sup>®</sup>), 20mg nos três primeiros dias e semanalmente uma dose de manutenção de 10mg, todas aplicações intramusculares. Para coleta o garanhão era conduzido até a égua e no momento que saltava para realização da cobertura tinha seu pênis desviado e introduzido na vagina artificial previamente preparada. Após detecção de ejaculação por meio de pulsação uretral na base do pênis e movimentos de embandeirar da cauda, a vagina artificial era esvaziada e o pênis retirado. Na coleta do ejaculado era separada a fração gel através do uso de um filtro de nylon acoplado ao copo coletor. Imediatamente após a coleta era aferido o volume e a temperatura do ejaculado e mantido em banho-maria, para a análise da motilidade espermática (CBRA, 1998). Feita a análise no local da coleta, uma amostra de sêmen era armazenada em tubo tipo *ependorf* contendo solução de formol salina previamente aquecido a 37 °C, em uma diluição de 1: 40 (uma parte de sêmen para quarenta de formol salina). Posteriormente era feita concentração espermática através da câmara de Neubauer e morfologia espermática fazendo-se esfregado e coloração com eosina a fim de se detectar as patologias espermáticas (CBRA, 1998).

Foi realizada análise descritiva das variáveis analisadas e foi gerada análise de variância. A comparação entre as médias foi feita através do teste Tukey HSD. A análise estatística foi feita utilizando o programa Statistix<sup>®</sup> (2003).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão demonstrados os valores médios das características seminais dos garanhões durante o período de coletas do experimento. Os valores médios obtidos são semelhantes aos descritos pelo CBRA (1998) para características seminais de equinos, exceto os valores de motilidade e de espermatozóides anormais.

Tabela 1: Estatística descritiva das variáveis avaliadas na qualidade seminal

Variável	n	Média ± erro padrão
Volume total,ml	21	55 ± 5
Volume sem gel,ml	21	54 ± 5
Concentração total, x 10 <sup>9</sup>	21	8,6 ± 0,9

Concentração, x 10 <sup>6</sup> /ml	21	196 ± 25,0
Motilidade, %	21	57 ± 5
Espermatozóides anormais, %	19	22 ± 2

Dos valores analisados de acordo com o mês os únicos que diferiram significativamente foram motilidade e porcentagem de células anormais.

A porcentagem de células móveis aumentou gradativamente com o decorrer do experimento (Tabela 2), fato este que pode ter ocorrido devido ao acréscimo de horas de luminosidade diária entre maio e agosto, conseqüentemente aumentando o nível das gonadotrofinas, testosterona e estrógenos circulantes. Estes resultados concordam com os encontrados por Johnson (1985); Roser & Hughes (1992) e Hoffman e Landeck (1999) os quais verificaram um aumento dos níveis de gonadotrofinas, testosterona e estrógenos no verão e diminuição durante o inverno.

Semelhante ao encontrado por Hoffman & Landeck, (1999) a motilidade teve influência da sazonalidade devido a modificações do controle endócrino, o qual atua regulando a função das glândulas sexuais acessórias e o epidídimo, conseqüentemente afetando a motilidade dos espermatozóides (Jasko et al., 1990; Johnson, 1991).

Tabela 2: Análise de variância para motilidade de acordo com o mês de coleta

Mês	Motilidade (%), média ± erro padrão
Maio	25 ± 10 <sup>b</sup>
Junho	40 ± 5 <sup>b</sup>
Julho	73 ± 5 <sup>a</sup>
Agosto	70 ± 8 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> Na coluna diferem estatisticamente (P < 0,05)

Tabela 3: Análise de morfologia anormal de espermatozóides de acordo com o mês de coleta

Mês	Morfologia anormal, média ± erro padrão
Junho	27 ± 3 <sup>a</sup>
Julho	17 ± 2 <sup>b</sup>
Agosto	25 ± 4 <sup>a, b</sup>

<sup>a, b</sup> Na coluna diferem estatisticamente (P < 0,05)

A porcentagem de células espermáticas anormais no período deste experimento foi menor que o valor referenciado no CBRA (1998) (Tabela 3). Tal resultado concorda com o descrito por Janett et al., (2003) que encontraram menores valores de anomalias morfológicas durante os meses de maior escuridão. O espermatozóide durante o inverno apresenta grande vitalidade e estabilidade a fresco (Blottner et al., 2001), no entanto após descongelamento possui maior grau de lesões de acrossomo e membrana plasmática, devido a diferenças circanuais de composição e hormônios presentes no plasma seminal que interagem com a membrana da célula masculina.

Condições sub-ótimas de espermatogênese durante o inverno poderiam influenciar na qualidade espermática e tornar a célula espermática mais susceptível a lesões durante o congelamento (Hoffman & Landeck, 1999; Johnson, 1991).

#### 4. CONCLUSÕES

Com este experimento pode-se concluir que as características do sêmen de garanhões da raça Crioula sofrem influência da sazonalidade, principalmente em relação à motilidade e porcentagem de células anormais. Apesar das modificações o sêmen apresenta características mínimas para ser utilizado tanto a fresco como congelado.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLOTTNER, S.; WARNKE, C.; TUCHSCHERER, A.; HEINEN, V.; TORNER, H. Morphological and functional changes of stallion spermatozoa after cryopreservation during breeding and non-breeding season. **Animal Reproduction Science**. 65, 75–88, 2001.

CBRA: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte, 2ª ed., p.49, 1998.

HOFFMANN, B.; LANDECK, A. Testicular endocrine function, seasonality and semen quality of the stallion. **Animal Reproduction Science**, 57, 89-98. 1999.

JANETT, F.; THUN, R.; NIEDERER, K.; BURGER, D.; HASSIG, M. Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion. **Theriogenology**, v60, 453-461. 2003.

JASKO, D.J.; LEIN, D.H.; FOOTE, R.H. The repeatability and effect of season on seminal characteristics and computer-aided sperm analysis in the stallion. **Theriogenology**, 35, 317–327, 1990.

JOHNSON, L. Increased daily sperm production in the breeding season of stallions is explained by an elevated population of spermatogonia. **Biology of Reproduction**. 32, 1181–1190, 1985.

JOHNSON, L. Seasonal differences in equine spermatocytogenesis. **Biology of Reproduction**. 44, 284–291, 1991.

JUNIOR, P.G. **Estudo do complexo do agronegócio do cavalo no Brasil**. Centro de estudos avançados em economia aplicada da ESALQ, Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, 68 p. 2004.

NAGY, P.; GUILLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Science**. 60-61, 245–262, 2000.

PIMENTEL, C.A.; CARNEIRO, G.F. Biotécnicas aplicadas à reprodução de eqüinos. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 2ªed. São Paulo: Editora Roca. p.145-159. 2008.

ROSER, J.F.; HUGHES, J.P. Seasonal effects on seminal quality, plasma hormone concentrations, and GnRH-induced LH response in fertile and subfertile stallions. **Journal of Andrology**. 13, 214–223. 1992.

SAMPER, J.C.; HELLANDER, J.C.; CRABO, B.G. Relation between fertility of fresh and frozen stallion semen and its quality measured as sperm motility and with glass wool/Sephadex filters. **Journal of Reproduction and Fertility**. 44, 107-14, 1991.

SAMPER, J.C. Artificial insemination. In: Samper JC, editor. **Equine breeding management and artificial insemination**. Philadelphia: WB Saunders Company; p. 109–31. 2000.

STATISTIX® 8. **Analytical Software**. Tallahassee: FL. p.396, 2003.