

## INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CAPRINOS LEITEIROS COM SÊMEN RESFRIADO POR 24 OU 48 HORAS

**Pedro Henrique Nicolau Pinto<sup>1</sup>, José Antonio de Freitas<sup>2</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>3</sup>, Veridiana Lourença de Souza<sup>4</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Médico Veterinário, Professor Titular da Faculdade Assis Gurgacz. E-mail: pedropintoufpr@gmail.com; <sup>2</sup>Zootecnista, Professor Adjunto III da Universidade Federal do Paraná. E-mail: freitasjaf@ufpr.br; <sup>3</sup>Médico Veterinário, Professor Adjunto IV da Universidade Federal Fluminense. E-mail: fzbr@vm.uff.br; <sup>4</sup>Zootecnista, Pós-graduanda pelo programa de Mestrado em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná. E-mail: veridianalsousa@yahoo.com.br; <sup>5</sup>Médico Veterinário, Pesquisador e coordenador do Núcleo Regional Sudeste da Embrapa Caprinos e Ovinos. E-mail: fonsecafonseca@com.br

**Resumo** - Objetivou-se, avaliar a viabilidade da utilização do sêmen caprino diluído em meio tris-gema 2,5% resfriado a 5°C e armazenado por diferentes períodos (24 ou 48 horas). Foram inseminadas por via transcervical 133 cabras sem raça definida e nativas da República de Cabo Verde, divididas aleatoriamente em dois tratamentos T24 e T48. O estro foi sincronizado com a utilização de esponjas intra-vaginais contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona por seis dias; 37,5 µg de D-cloprostenol e 200 UI de eCG 24 horas antes da retirada da esponja. Foram utilizados três reprodutores da Raça Canárias. Para resfriar e manter o sêmen a 5°C foi utilizado o Botutainer® (Biotech Botucatu, Reprodução Animal, Botucatu - SP) adaptado. Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre os padrões seminais para os diferentes períodos de resfriamento (T24 - 58,8% ± 11,1 de motilidade e 2,9 ± 0,5 de vigor; T48 - 51,3% ± 2,5 de motilidade e 2,8 ± 0,3 de vigor), o que permitiu obter taxas de parição similares em ambos os tratamentos (T24 - 26,5% e T48 - 21,5%). A eficiência dos protocolos testados permitiu a disseminação de genética caprina na República de Cabo Verde. Conclui-se que o sêmen caprino, resfriado por 48 horas a 5°C, tem o mesmo potencial de fertilização do sêmen resfriado por 24 horas a 5°C.

**Palavras-Chave:** caprino, inseminação artificial, sêmen resfriado

## ARTIFICIAL INSEMINATION IN DAIRY GOATS WITH COOLED SEMEN STORED FOR 24 OR 48 HOURS

**Abstract** - The fertilizing capacity of goat semen diluted in tris-egg yolk 2.5% chilled at 5°C for 24 or 48 hours was evaluated. Transcervical artificial insemination was performed in 133 goats that were divided, randomly, into two treatments T24 and T48. The estrus was synchronized by the mean of intra-vaginal sponges containing 60 mg of medroxyprogesterone acetate for six days; 37.5 mg of D-cloprostenol and 200 IU of eCG, 24 hours before removing the sponge. Three Canarian's Buck were used. For cooling and keeping the semen at 5°C a Botutainer® (Biotech Botucatu, Animal Reproduction, Botucatu - SP) was adapted and used. There was no difference ( $P > 0.05$ ) between the seminal patterns for the different periods of cooling (T24 - 58.8%±11.1 for motility and 2.9±0.5 for strength; T48 - 51.3%±2.5 for motility and 2.8±0.3 for strength), which allowed to obtain similar pregnancy rates in both treatments (T24 - 26.5% and T48 - 21.5%). The efficiency of the tested protocols allowed the dissemination of goat's genetic material in the Republic of Cape Verde. It was concluded that goat semen, cooled for 48 hours at 5°C, has the same fertility that semen cooled for 24 hours at 5°C.

**KeyWord:** artificial insemination, cooled semen, goat

## INTRODUÇÃO

A República de Cabo Verde pertence à zona de países que têm um clima subtropical seco, caracterizada por uma estação chuvosa curta (três meses) de Agosto a Outubro e uma estação seca mais longa de Novembro a Julho. Esta baixa precipitação anual interfere negativamente na exploração agrícola e pecuária do país. Associado a isso, as tecnologias atualmente empregadas neste setor não suprem a demanda por alimentos do país. Por isto, torna-se necessário definir alternativas sustentáveis de exploração que aprimorem o desempenho das práticas agropecuárias e, conseqüentemente, aumentem a oferta de alimentos para a população caboverdiana. Uma possível alternativa é a intensificação de práticas pecuárias já tradicionais, como a caprinocultura leiteira.

Neste contexto insere-se a inseminação artificial, pois é a biotécnica da reprodução mais importante e mais utilizada para o melhoramento genético das espécies (Nunes et al., 2002). A associação de programas de seleção animal com biotécnicas reprodutivas pode incrementar a produtividade de rebanhos. Tendo em vista esta possibilidade, optou-se por introduzir a inseminação artificial com sêmen resfriado no referido país. A escolha desta técnica foi orientada por um estudo das condições e formas de organização dos caprinocultores de Cabo Verde. Com a introdução desta biotécnica, associada a um controle zootécnico e identificação de indivíduos geneticamente superiores, pretende-se elevar de forma gradual, criteriosa e orientada a produção nos rebanhos.

O resfriamento de sêmen é a técnica de eleição quando os machos se encontram próximos aos lugares onde serão utilizados (cooperativas regionais compartilhando os mesmos reprodutores, por exemplo). Em função disto, foi avaliada a viabilidade técnica da utilização do sêmen caprino resfriado a 5°C e armazenado por um período de 24 ou 48 horas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O período experimental compreendeu os meses de dezembro de 2009 a maio de 2010. As cabras utilizadas no experimento pertenciam a 32 propriedades diferentes, porém todas com manejo muito semelhante. As fêmeas ficavam alojadas em apriscos de chão rochoso, eram alimentadas duas a três vezes por dia com plantas nativas, e recebiam pequenas quantidades de milho em grão uma vez ao dia.

Foram utilizadas 133 fêmeas, entre mestiças Canárias e SRD, de diferentes categorias (núlparas, cabras secas e lactantes) distribuídas

aleatoriamente em dois grupos: T24, fêmeas inseminadas com sêmen resfriado por 24 horas; T48, fêmeas inseminadas com sêmen resfriado por 48 horas.

Para sincronização de estro foi utilizado o protocolo de dias curtos proposto por Fonseca (2006). Este consiste em um tratamento de seis dias com um implante contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP), seguido da aplicação de 200 UI de eCG e 37,5 µg de d-Cloprostenol, por via intramuscular, 24 horas antes da retirada do dispositivo.

Três machos da raça "Canárias" sexualmente maduros e previamente aprovados em exame andrológico, foram utilizados como doadores de sêmen. A coleta foi realizada por meio de uma vagina artificial. Após a coleta, o sêmen era diluído em meio Tris-gema 2,5%, adaptado de Evans e Maxwell (1987), até a concentração final de 150 milhões de espermatozoides viáveis por dose inseminante, envasado em palhetas de 0,25ml e resfriado.

Utilizou-se para conservar e transportar o sêmen um recipiente denominado Botutainer® (Botutech, Reprodução Animal, Botucatu - SP) adaptado. A queda da temperatura no interior do equipamento foi de 0,08°C/minuto, até estabilização à 5°C, que acontecia, em média, 6 horas após o início do resfriamento. Foi acoplado ao Botutainer® um termômetro de refrigerador, que permitia monitorar a temperatura no interior do equipamento. Cada vez que esta chegava à 10°C, uma das unidades de frio (gelo reciclável que acompanha o Botutainer®) era substituída por outra previamente congelada. Dessa forma, mantinha-se a temperatura no interior do recipiente entre 5 e 10°C.

Após o período de resfriamento, as amostras foram novamente avaliadas quanto à motilidade e vigor em microscópio de contraste de fase por um avaliador treinado. Foi realizada uma única inseminação, pela técnica de fixação da cervice (Fonseca et al., 2007), em tempo fixo, 36 horas após a retirada do implante de MAP. As médias das motilidades e das taxas de parição, dos diferentes períodos de resfriamento (24 ou 48 horas), foram avaliadas pelo Teste t ao nível de 5% de probabilidade, para comparação de diferenças entre duas médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com as adaptações feitas ao Botutainer®, observou-se uma queda de temperatura de 0,08°C/minuto. A utilização da refrigeração com taxas relativamente lentas, com quedas abaixo de 0,33°C/min (Douglas-Hamilton et al., 1984) e homogêneas possibilita uma desidratação

adequada, minimizando as lesões de membrana, prevenindo a indução prematura da capacitação e da reação acrossomal (WATSON, 2000). Ainda, Bispo (2005) estabeleceu que as curvas de  $-0,5^{\circ}\text{C}/\text{mim}$  e  $-0,03^{\circ}\text{C}/\text{mim}$  apresentam resultados satisfatórios para sêmen caprino resfriado à  $5^{\circ}\text{C}$  e diluído em meios a base de citrato e gema.

Não foi encontrada diferença ( $P>0,05$ ) entre o período máximo (48 horas:  $51,3 \pm 2,5\%$  de motilidade e  $2,8 \pm 0,3$  de vigor) e mínimo (24 horas:  $58,8 \pm 11,1\%$  de motilidade e  $2,9 \pm 0,5$  de vigor) de resfriamento. Siqueira et al. (2009), utilizando o mesmo protocolo aqui descrito, não encontraram diferença ( $P>0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento de sêmen (12 ou 24 horas). No entanto, Islam et al. (2006) e Viana et al. (2006), utilizando metodologia semelhante à proposta neste estudo, verificaram diferença ( $P<0,05$ ) ao compararem os valores de motilidade para sêmen caprino resfriado a  $5^{\circ}\text{C}$  por 24 ou 48 horas. Assim, abre-se margem para outros estudos que testem a utilização do sêmen caprino resfriado por períodos superiores a 48 horas. Há uma grande aplicabilidade para esta informação, pois uma janela de tempo mais longa permitiria ao inseminador se organizar melhor, se deslocar por maiores distâncias, e ser mais criterioso quanto ao momento para realizar a inseminação.

Não verificou-se diferença ( $P>0,05$ ) para taxa de parição, entre os tratamento 24 horas (26,5%) e 48 horas (21,5%) (Figura 1). As taxas de parição encontradas neste trabalho, 24,1 % em média, estão abaixo dos valores obtidos por Mara et al. (2007) e Siqueira et al (2009). Estes autores acima citados conseguiram, respectivamente, 71,4% e 55,5% de gestação em programas de inseminação artificial com sêmen caprino resfriado a  $5^{\circ}\text{C}$ , e cio induzido. No entanto, nestes estudos o diagnóstico de gestação foi feito por meio do exame ultrassonográfico próximo aos 50 dias de gestação. Com esta metodologia é possível que aconteçam diagnósticos falsos positivos, devido à morte embrionária precoce com absorção fetal, aborto não observado ou erro no registro da bexiga (Bruckell, 1988; Matsas, 2007). O que pode superestimar os índices de fertilidade.

Sabe-se que incrementos na taxa de concepção são obtidos quando a inseminação, em caprinos, é realizada no terço final do estro (SMITH, 1986, citado por SIQUEIRA et al., 2009), e que a correta identificação do estro tem impacto positivo nos programas de inseminação artificial (NUTI, 2007). Por isso, outro fator que pode ter contribuído para diminuir a taxa de nascimentos foi o uso da inseminação artificial em tempo fixo. Nesta técnica, não há detecção de cio e todos os animais são inseminados, metodicamente, no mesmo horário. É

possível que as cabras que entraram em cio mais cedo tenham sido inseminadas tardiamente e aquelas que entraram em cio mais tarde tenham sido inseminadas precocemente. Segundo Machado & Simplício (2001), inseminações feitas precocemente ou tardiamente reduzem as taxas de fertilidade. Existe, ainda, a possibilidade de que cabras que não entraram em cio tenham sido inseminadas, o que contribui para a redução das taxas de parição.

Deve-se ressaltar também que para protocolos de sincronização de estro e ovulação, a base de progestágenos, as inseminações devem ocorrer entre 42 até 60 horas após a retirada do implante de progesterona (Machado & Simplício, 2001; Traldi, 2007; Fonseca, 2010). No presente estudo, não foi possível seguir esta metodologia e, por isso, as inseminações foram antecipadas e realizadas  $37,0 \pm 2,1$  horas após a remoção dos progestágenos. Esta antecipação pode ter interferido de forma negativa nas taxas de parição.

Não há nenhum estudo ou relato a respeito dos índices reprodutivos dos rebanhos caprinos de Cabo Verde. Isto torna ainda mais subjetiva a avaliação dos resultados encontrados, e dificulta classificá-los como satisfatórios ou insatisfatórios, uma vez que não há parâmetros específico para comparação. Porém, fica a constatação de que a metodologia empregada foi eficiente em disseminar material genético no arquipélago de Cabo Verde.

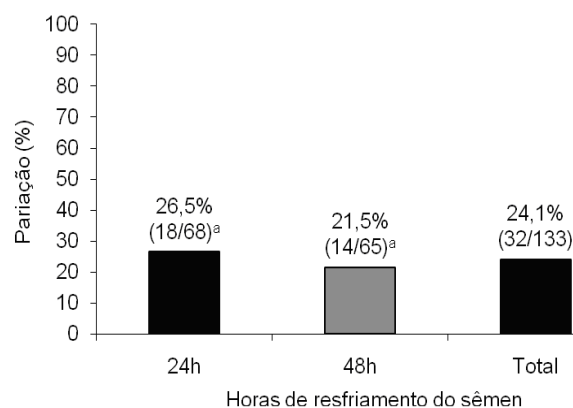


Figura 1 Porcentagem de parição total e em função do período de resfriamento de sêmen. Letras minúsculas iguais em colunas diferentes não diferem estatisticamente ( $P>0,05$ ).

## CONCLUSÕES

O sêmen caprino, resfriado por 48 horas a  $5^{\circ}\text{C}$  tem o mesmo potencial de fertilização do sêmen resfriado por 24 horas a  $5^{\circ}\text{C}$ .

O sêmen caprino pode ser resfriado e transportado eficientemente em um Botutainer® adaptado.

## REFERÊNCIAS

- FONSECA, J. F.; CRUZ, R. C.; PINTO, P. H. N.; FACÓ, O.;  
Inseminação artificial em pequenos ruminantes In: **I Workshop sobre ciência animal na Bahia**. Ilhéus Bahia 20 a 22 de outubro de 2010.
- FONSECA, J. F.; LOBO, R. N. B.; FACÓ, O.; VILLELA, L. C. V.;  
COUTO, J. F. Timed Artificial Insemination (TAI) in Saanen Goats  
In: **Reprod Dom Anim.** n 42, Suppl.2, abstract P230, 2007.
- ISLAM, R.; AHMED, K.; DEKA, B.C. Effect of holding and washing on the quality of goat semen. In: **Small Ruminant Research.** vol. 66, p. 51 – 57, 2006.
- SIQUEIRA, A.P.; SILVA FILHO, J.M.; FONSECA, J.F.; BRUSCHI, J.H.; PALHARES, M.S.; BORGES, A.M.; BRUSCHI, M.C.M.; PEIXOTO, M.P.; ROSSI, R. Taxa de concepção de cabras inseminadas com sêmen caprino resfriado a 5oC, por 12 ou 24 horas, em meio diluidor à base de gema de ovo. In: **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** vol. 61, p. 66 – 71, 2009.