

MORFOLOGIA ESPERMÁTICA DE CARNEIROS NATIVOS

Antonio Carlos Duenhas Monreal¹
Denner Santos dos Anjos²
Albert Schiaveto de Souza¹
Maria Inês Lenz de Souza¹

MONREAL, A. C. D.; ANJOS, D. S. dos; SOUZA, A. S. de; SOUZA, M. I. L. de. Morfologia espermática de carneiros nativos. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 19-23, jan./jun. 2012.

RESUMO: A avaliação da morfologia espermática é um dos critérios determinantes para a seleção de machos para a reprodução. O objetivo do presente trabalho foi verificar as alterações morfológicas do sêmen de carneiros durante as estações do ano. Foram utilizados 12 animais, efetuando-se esfregaços de sêmen mensalmente para coloração do método de Karras modificado durante um ano. Observou-se que os animais apresentaram maiores percentuais de espermatozoides anormais na primavera e outono ($15,46 \pm 27,10$ e $11,33 \pm 26,38$, respectivamente), quando comparados com o verão ($3,18 \pm 1,95$) e inverno ($5,46 \pm 2,73$). Quando comparado a estação seca e chuvosa, o período de seca apresentou maiores percentuais de morfologias alteradas ($7,98\% \pm 8,01$) em relação ao período chuvoso ($3,95\% \pm 1,78$), sugerindo que tanto a variação sazonal, quanto a variação nutricional influenciaram as características do sêmen. Concluindo, os carneiros nativos não apresentaram alterações morfológicas significativas do sêmen ao longo do ano, sendo este um importante fator para a utilização do mesmo em monta natural ou inseminação artificial em qualquer período do ano.

PALAVRAS-CHAVE: Ovinos; Reprodução; Sêmen.

SPERM MORPHOLOGY OF NATIVE RAMS

ABSTRACT: The evaluation of sperm morphology is one of the determining criteria to select males for reproduction. The aim of this study was to evaluate the sperm morphology of native rams during the seasons of the year. 12 animals were used, and semen was smeared monthly for a year utilizing the modified method by Karras. It was observed that the animals had higher percentage of abnormal sperm in spring and autumn (15.46 ± 27.10 and 11.33 ± 26.38 , respectively) when compared to summer (3.18 ± 1.95) and winter (5.46 ± 2.73). When the dry and rainy seasons were compared, the former had higher percentages of altered morphology ($7.98\% \pm 8.01$) compared to the latter ($3.95\% \pm 1.78$), suggesting that the seasonal variation as well as nutritional variation influence the characteristics of semen. It was concluded that native rams showed no significant morphological alterations of semen during the year, which is an important factor in its use for natural mating or artificial insemination at any time of the year.

KEYWORDS: Ovine; Reproduction; Semen.

MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA EN CARNEROS NATIVOS

RESUMEN: La evaluación de la morfología espermática es uno de los criterios determinantes para la selección de machos para reproducción. El objetivo de este estudio ha sido verificar las alteraciones morfológicas del semen de carneros durante las estaciones del año. Se utilizaron 12 animales, efectuándose flotamiento de semen, mensualmente, para coloración del método de Karras, modificado durante un año. Se observó que los animales presentaron mayores porcentuales de espermatozoides anormales en la primavera y otoño ($15,46 \pm 27,10$ y $11,33 \pm 26,38$, respectivamente), cuando comparados con el verano ($3,18 \pm 1,95$) e invierno ($5,46 \pm 2,73$). En comparación con la estación seca y lluviosa, el periodo de sequía presentó mayores porcentuales de morfologías alteradas ($7,98\% \pm 8,01$) en comparación al período lluvioso ($3,95\% \pm 1,78$), sugiriendo que tanto la variación estacional como la variación nutricional influenciaron las características del semen. Concluyendo, los carneros nativos no presentaron alteraciones significativas morfológicas del semen durante el año, siendo éste un factor importante para la utilización del mismo en monta natural o inseminación artificial en cualquier época del año.

PALABRAS CLAVE: Ovinos; Reproducción; Semen.

Introdução

A produção espermática é influenciada por muitos fatores, tais como a raça, ano, ambiente (duração do dia, temperatura e umidade), manejo (FOLCH, 1983) e variação sazonal resultando em alterações nas características do sêmen em bovinos (SEKONI; GUSTAFSSON, 1978), caprinos

(WALD, et al., 1988; ROCA, et al., 1992) e em carneiros, que manifestam uma sazonalidade reprodutiva (FOLCH, 1993).

Barbas et al. (2001), avaliaram em carneiros da raça Merina Regional na Serra da Estrela, os efeitos das épocas do ano sobre as características seminais e não se observou um efeito estacional sobre a percentagem de espermatozoides vivos e normais.

¹Prof Dr. do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul(UFMS). Campus Universitário s/n, CEP: 79070-900, Bairro Universitário, caixa postal: 549, Campo Grande-MS. antonio.monreal@ufms.br.

²Residente em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul(UFMS). Campus Universitário s/n, CEP: 79070-900, Bairro Universitário, caixa postal: 549, Campo Grande-MS.

Em altas latitudes, a atividade reprodutiva dos machos pode estar ausente por alguns meses (CORTEEL, 1975; SAUMANDER; ROUGER, 1984; AHMAD; NOAKES, 1996), enquanto em latitudes intermediárias as variações seminais são menos pronunciadas (ROCA, et al., 1992; PÉREZ; MATEOS, 1996; KARAGIANNIDIS, et al., 2000). Em regiões tropicais, próximas à linha do Equador, onde não há variação da luminosidade diária, não ocorrem diferenças estacionais na produção espermática dos machos de raças nativas (CHEMINEAU, 1986; HIBBERT, et al., 1986).

Kraemer (2000) e 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.

Dessa maneira, o exame de morfologia espermática faz parte da avaliação qualitativa do ejaculado e permite a determinação da frequência de cada uma das anormalidades espermáticas e do percentual total de alterações na amostra de sêmen. É utilizado como indicativo do potencial fecundante do ejaculado, pois as alterações interferem na capacidade de movimentação e fecundação do espermatozoide, de acordo com a localização do defeito, funcionando como uma ferramenta fundamental para o descarte do ejaculado e até mesmo do reprodutor (BORTOLOZZO, et al., 2005).

Blom (1973) já sugeriu que as anomalias espermáticas fossem classificadas em defeitos espermáticos maiores e menores. Os defeitos maiores, quando em porcentagem elevadas, têm sido associados à condição patológica do testículo ou do epidídimo, e a distúrbios da espermatogênese resultando como consequência alterações na fertilidade ou até mesmo infertilidade. Os defeitos menores também podem causar infertilidade, entretanto, é menos provável, havendo fertilização.

O objetivo da pesquisa foi determinar a frequência e variação das alterações espermáticas do sêmen de carneiros nativos criados em Mato Grosso do Sul, durante o período de um ano.

Material e Métodos

O experimento foi realizado mensalmente em uma propriedade rural, durante um ano, localizada no município de Jaraguari, sob latitude 20°08'30"S, Mato Grosso do Sul, Brasil, com altitude de 532 metros. Foram utilizados 12 carneiros sem raça definida (SRD), com um ano de idade, peso médio de 56 kg, locados na referida propriedade, com regime extensivo *Brachiaria brizantha* c.v Marandu e água *ad libitum*. Todos os animais foram adaptados e condicionados à eletroejaculação previamente ao início experimental e para a presente experimentação só foram incluídos os animais que apresentaram na avaliação física do sêmen vigor superior a três e motilidade superior a 65%.

Durante a colheita do sêmen, pela eletroejaculação, os machos foram colocados ao solo em decúbito lateral, utilizando uma probe de 22 cm de comprimento, 2,5cm de diâmetro com três eletrodos. A probe retal foi lubrificada e posteriormente inserida no reto, posicionados com os eletrodos ventralmente. A sonda foi introduzida no reto até uns 10-20cm (dependendo do tamanho individual), procurando não

lesar a mucosa. A glândula foi exteriorizada, segurando-se o pênis por trás (por meio de uma gaze), introduzindo-o em um copo coletor (limpo, seco, estéril e aquecido a 37°C).

Aplicaram-se três a cinco estímulos, em intervalos de cinco segundos entre si (evitando-se o excesso de secreções das glândulas anexas), para estimular a ejaculação, recolhendo-se o sêmen no tubo coletor. Após a colheita do sêmen, foi realizada a técnica de esfregaço fino para coloração e futura visualização ao microscópio óptico. Após recolhido o sêmen, com o auxílio de uma pipeta de 20µL, foi depositada no extremo de uma lâmina, uma gota do sêmen e, com a ajuda de uma outra lâmina que atuou como extensora, estendeu-se a gota de sêmen sobre o mesmo, de tal maneira que se formou uma delgada película sobre a lâmina.

Após a confecção do esfregaço, deixou secar a amostra para em seguida realizar a coloração. A coloração foi realizada pelo método de Karras modificado para ovinos (PAPA et al., 1988), pois permite uma eficiente visualização tanto do espermatozoide quanto do acrossomo ao microscópio óptico. Os esfregaços previamente confeccionados foram mergulhados rapidamente três vezes ao metanol, deixando secar por um período de 20 minutos. Em seguida, foram imersas sequencialmente nas soluções de Amarelo de Metacromo, Tanino e Azul de Vitória com intervalos de 2', 1', e 15'', respectivamente e, secas em temperatura ambiente. Avaliaram-se duzentas células para cada lâmina confeccionada, classificando-os de acordo com o tipo da alteração morfológica (BLOM, 1973).

A comparação entre as estações seca e chuvosa, em relação ao percentual de células com morfologia alterada, foi realizada por meio do teste t-student pareado utilizando-se o "Software" SigmaStat, versão 2.0, considerando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

O presente trabalho foi aceito pelo Comitê de Ética no uso de animais CEUA/UFMS protocolo nº 192/2008.

Resultados e Discussão

A análise dos ejaculados permitiu a identificação de um sêmen com melhor ou pior qualidade servindo, futuramente, aos carneiros como possíveis doadores de sêmen para utilização em monta natural ou inseminação artificial. Portanto, a correta tomada de decisão na manutenção do reprodutor requer um protocolo na avaliação da qualidade e quantidade do sêmen, observando se esse é ou não um bom reprodutor. Em caso de resposta negativa, tomar-se-ão medidas de controle, como manejo, nutrição e temperatura, a fim de que seja melhorado o desempenho do animal, sendo que desta forma, o mesmo poderá servir, com segurança, como futuro reprodutor.

O presente trabalho realizado com carneiros nativos foi constatado que houve maior porcentagem de espermatozoides anormais durante o outono ($11,33 \pm 26,38$ %) e primavera ($15,46 \pm 27,10$ %) quando comparados com o verão ($3,18 \pm 1,95$) e inverno ($5,46 \pm 2,73$), observando-se um aumento significativo na transição inverno-primavera, nos meses de agosto e setembro (Figura 1).

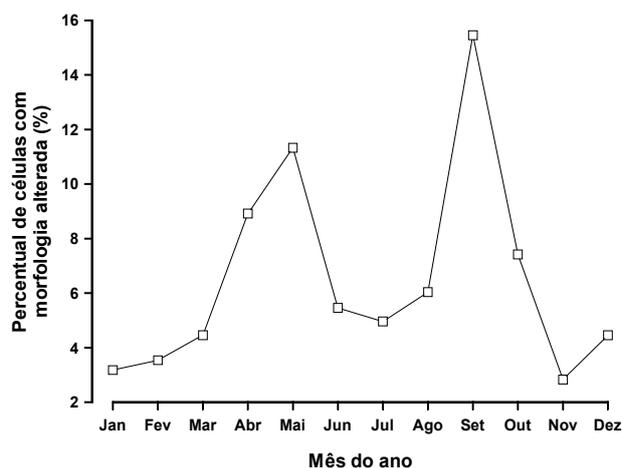


Figura 1: Percentual médio de células com morfologia alterada, em cada um dos meses do ano. Cada símbolo representa o valor percentual médio, Campo Grande, 2009.

Em estudo realizado em carneiros das raças Chios e Friesian na Grécia, os animais apresentaram percentagem de espermatozoides anormais, sendo maior durante o verão e primavera ($7,40 \pm 0,40\%$ e $8,20 \pm 0,45\%$ na raça Chios; $7,17 \pm 0,44$ e $7,75 \pm 0,29$ na raça Friesian, respectivamente), concluindo que as características do sêmen apresentaram alterações pela variação estacional tanto na qualidade como na quantidade (KARAGIANNIDIS, et al. 2000).

Já o trabalho realizado por Gündogan (2007) demonstrou uma baixa percentagem de espermatozoides anormais durante o outono e uma maior percentagem de espermatozoides anormais durante o verão, diferindo do presente experimento. Wald, Jobin e Oberst (1988), não encontraram alterações na percentagem de espermatozoides anormais no sêmen ejaculado na primavera e no verão, corroborando com o presente estudo, ao qual não observaram também alterações significativas.

Roca et al. (1992), avaliando carneiros na Espanha, relataram que a incidência de espermatozoides anormais é duas vezes maior no inverno do que na primavera, verão e outono. Mickelsen, Paisley e Dahmen (1981) observaram que a percentagem de espermatozoides normais foi maior em outubro (92,8%) e menor em fevereiro (56,1%), no Noroeste dos Estados Unidos, com um aumento na percentagem de células normais no mês de abril. Isso difere do presente estudo que encontrou uma diminuição de células normais no mês de abril e que a incidência de espermatozoides anormais foi aproximadamente duas vezes maior na primavera e outono do que no verão e inverno, sendo setembro o mês de maior incidência de espermatozoides anormais (15,46%) e novembro o menor (2,83%).

Mickelsen, Paisley e Dahmen (1982) observaram a percentagem de morfologia normal maior em setembro (82,3%) e menor em fevereiro (57,8%), diferindo do presente trabalho, sendo novembro o mês com maior morfologia normal (97,17%), e setembro com a menor (84,54%). Essas diferenças podem estar relacionadas possivelmente pelo aspecto nutricional (afetado indiretamente pela estação seca), temperatura, manejo e estresse, não estudados no presente experimento.

Quando comparamos com dados na região leste do Rio Grande do Norte, as raças Dorper, Santa Inês e mestiços

apresentaram maior percentagem de espermatozoides anormais com valores de 22,6%, 24,2% e 18,5%, respectivamente, durante o verão (MAIA; MEDEIROS; LIMA, 2011). Isto difere do presente trabalho no qual foi encontrada uma percentagem de 3,18% de espermatozoides anormais no verão. Este fato poderia ser atribuído pelo efeito negativo da temperatura ambiente sobre a espermatogênese, porém este fator não foi avaliado no presente estudo. Em outro estudo realizado em Espírito Santo com carneiros da raça Santa Inês, foi observado uma percentagem de 29,9% com idade de 10 meses ao longo de um ano (PACHECO, et al., 2009). Este resultado é superior comparado ao presente estudo, no qual foi observado no máximo 15,46% de defeitos espermáticos ao longo do ano, sugerindo que os carneiros mestiços apresentaram sêmen com menor percentagem de células anormais que as raças puras, ou seja, um sêmen de melhor qualidade. Este fator é citado na literatura, onde têm sido encontradas diferenças entre as raças na maioria dos parâmetros seminais de ovinos (volume, concentração, espermatozoides viáveis e anormais) bem como a produção espermática diária (SILVA; NUNES, 1984; CHEMINEAU, et al., 1991; COSTA, et al., 2009).

Em comparação às estações do ano, para a estação seca, os carneiros apresentaram maiores percentagens de espermatozoides anormais em comparação com a estação chuvosa ($7,98\% \pm 8,01$ e $3,95\% \pm 1,78$, respectivamente) (Figura 2).

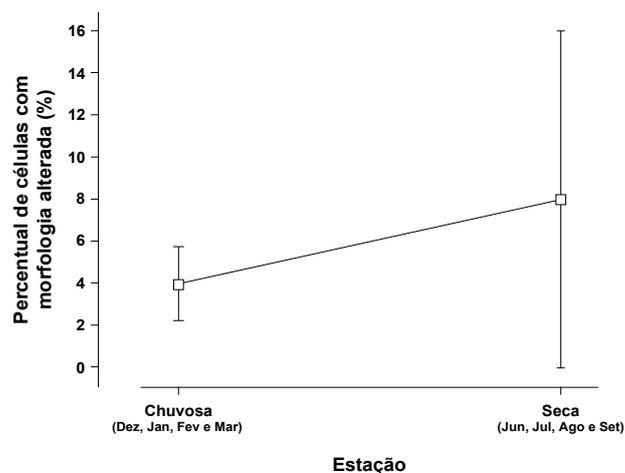


Figura 2: Percentual médio de células com morfologia alterada, na estação chuvosa e na estação seca do ano. Cada símbolo representa o valor percentual médio em uma determinada estação, enquanto que cada barra representa o desvio padrão da média, Campo Grande, 2009.

Contudo, não houve diferença significativa entre eles em relação ao percentual de células com morfologia alterada ($p=0,09$). Sendo assim, apesar de outono e primavera serem as estações em que ocorreram maiores anormalidades espermáticas (11,33% e 15,46%, respectivamente) carneiros nativos, estes podem ser utilizados para programas de inseminação artificial. Contudo, sua avaliação seminal deve atingir os parâmetros ideais (motilidade, vigor, concentração), devido ao fato de que as anormalidades espermáticas devem-se manter dentro do padrão considerado para fertilidade ($\geq 15\%$ de espermatozoides anormais não são aconselháveis para inseminação artificial).

Dessa forma, os carneiros nativos criados na região de Campo Grande sob latitude 20°08'30"S podem ser utilizados em quaisquer meses do ano para monta natural ou inseminação artificial, após a avaliação andrológica de rotina e observação da fertilidade do sêmen após a sua congelamento. Pode ser sugerido também que a inseminação artificial ou monta natural seja feita na estação chuvosa, onde os parâmetros morfológicos alterados são menores quando comparados com a estação da seca. Entretanto, ainda são necessários mais estudos para investigar quais os fatores que alteram efetivamente a morfologia espermática em ovinos nativos na estação seca.

Com isso, avaliar as características reprodutivas como parâmetros espermáticos para a seleção de machos geneticamente superiores, permite elucidar quais animais apresentam as mais frequentes alterações morfológicas espermáticas, ficando a critério do criador expandir o rebanho através da inseminação artificial pela manipulação e congelamento do sêmen.

Conclusão

No presente trabalho, as estações de maiores alterações morfológicas no sêmen de carneiros nativos foram outono e primavera. Quando comparados com a estação seca e chuvosa, o período de seca apresentou maior quantidade de alterações morfológicas que o período chuvoso. Conclui-se, portanto, que os carneiros nativos criados na região de Campo Grande, não demonstram estacionalidade em sua morfologia espermática, podendo ser utilizados em quaisquer meses do ano para monta natural ou inseminação artificial.

Agradecimentos

À FUNDECT pelo apoio financeiro para iniciação científica do trabalho realizado.

Referências

AHMAD, N.; NOAKES, D. E. Seasonal variations in the semen quality of young British goats. **The British Veterinary Journal**, v. 2, p. 225-236, 1996.

BARBAS, J. P. et al. Variação Anual das características seminais de carneiros Merino Regional e Serra da Estrela, em sêmen fresco. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, v. 8, n.1, p. 312-323, 2001.

BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nordisk Veterinaermedicin**, v. 25, n. 7, p. 383-391, 1973.

BORTOLOZZO, F. P. et al. Exame do ejaculado. In: BORTOLOZZO, F. P. et al. **Suinocultura em ação: Inseminação artificial na suinocultura tecnificada**. Porto Alegre, 2005. p. 69-87.

CHEMINEAU P. Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. II. Male mating behaviour, testis diameter, ejaculate characteristics

and fertility. **Reproduction, Nutrition, Développement**, v. 26, p. 453-460, 1986.

CHEMINEAU, P. et al. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. **Rome: FAO**, n. 83, p. 222, 1991.

CORTEEL, J. M. Production de sperme chez le bouc: variation saisonnière de la quantité et de la qualité du sperme récolté selon l'âge des animaux. **C. R. JOURNEES DE LA RECHERCHE OVINE ET CAPRINE**, Paris: INRA – ITOVIC, v. 1, p. 4-17, 1975.

COSTA, A. N. L. et al. Avaliação andrológica de reprodutores ovinos no cariri cearense. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 18., Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 2009.

FOLCH, J. Influence of age, photoperiodism and temperature on semen production of rams. In: COUROT, M. **The Male in Farm Animal Reproduction**. Amsterdam: MSTERDANMartinus Nijhoff Publishers, 1993. p. 141-160.

FOLCH, J. Estacionalidad sexual de los ovinos y caprinos en la Peninsula Iberica. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 5., Luso. **Anais...** v. 1, p. 99-112, 1993.

GÜNDOGAN, M. Seasonal variation in serum testosterone, T3 and andrological parameters of two Turkish sheep breeds. **Small Ruminant Research**, v. 67, n. 2, p. 312- 316, 2007.

HIBBERT, L. M. et al. Effects of age and season on sperm abnormalities in Nubian goats. **Anatomy, Histology and Embryology**, v.15, n. 2, p. 173, 1986.

KARAGIANNIDIS, A. et al. Seasonal variation in semen characteristics of Chios and Friesian rams in Greece. **Small Ruminant Research**, v. 37, p. 125-130, 2000.

KRAEMER, T. The influence of high ambient temperature on different parameters of semen, biochemical and endocrine parameters in bulls in a climatic chamber and in subtropical climate. **Thesis Berlin: FU Berlin**, p. 138, 2000.

MAIA, M. S.; MEDEIROS, I. M.; LIMA, C. A. C. Características reprodutivas de carneiros no Nordeste do Brasil: parâmetros seminais. **Revista Brasileiro de Reprodução Animal**, v. 35, n. 2, p. 175-179, 2011.

MICKELSEN, W. D.; PAISLEY, L. G.; DAHMEN, J. J. The effect of season the scrotal circumference and sperm motility and morphology in rams. **Theriogenology**, v. 16, n. 1, p. 45-51, 1981.

_____. Seasonal variations in scrotal circumference, sperm quality and ability in rams. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 181, n. 4, p. 376-380,

1982.

PACHECO, A. et al. Características seminais de carneiros da raça Santa Inês na pré-puberdade, puberdade e na pós-puberdade. **ARS Veterinária**, v. 25, n. 2, p. 90-99, 2009.

PAPA, F. O. et al. Coloração Espermática Segundo Karras Modificada pelo Emprego do Barbatimão (*Stryphnodendrum barbatiman*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 40, n. 2, p. 115-123, 1988.

PÉREZ, B.; MATEOS, E. Effect of photoperiod on semen production and quality in bucks of Verata and Malagueña breeds. **Small Ruminant Research**, v. 22, p. 163-168, 1996.

ROCA, J. et al. Seasonal variations of semen quality in males goats: study of sperm abnormalities. **Theriogenology**, v. 38, p. 115-125, 1992.

SAUMANDER, J.; ROUGER, Y. Variations saisonnières des taux d'androgènes dans le plasma de sang périphérique chez le bouc. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v. 274, p. 89-92, 1984.

SEKONI, V. O.; GUSTAFSSON, B. K. Seasonal variations in the incidence of sperm morphological abnormalities in dairy breeds regularly used artificial insemination. **British Veterinary Journal**, v. 143, p. 312-317, 1987.

SILVA, A. E. D. F.; NUNES, J. F. Estacionalidade na atividade sexual e qualidade do sêmen nos ovinos deslançados das raças Santa Inês e Somalis. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 8, p. 207-214, 1984.

VALLE, A.; FUENTES, A.; PUERTA, M. Influencia 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, p. 52-61, 2005.

WALD, V. B.; JOBIN M. J. M.; OBERST, E. R. Produção espermática em caprinos: influência etária e sazonal. **A hora veterinária**, v. 7, n. 42, p. 45-48, 1988.