

COLETA SEMINAL E AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA ESPERMÁTICA DE UM OVINO

SANTOS, Jéssica Penélope Delgado dos^{1*}
LOPES, Luciana Moreira¹
MIERES, Franciele Camargo¹
LUNA, Jéssica Camargo¹
ROSSATO, Andressa Dutra Piovesan²
TEIXEIRA, Bruno Borges M.²
SIMÕES, Michele Scholant²
VAN DER LINDEN, Liana de Salles²
CORADINI, Marcia Goulart Lopes²

RESUMO: A coleta de sêmen é um método muito utilizado na Medicina Veterinária para avaliar a qualidade seminal do macho reprodutor por meio de técnicas e análises microbiológicas e laboratoriais. Assim, este projeto objetivou a análise de alterações morfológicas espermáticas de um animal da espécie ovina mediante coleta seminal por eletroejaculação. Para a realização desse, coletou-se o sêmen de um carneiro da raça Hampshire Down com eletroejaculador. O ejaculado foi avaliado em microscópio óptico – a campo – quanto ao turbilhonamento, motilidade e vigor espermáticos e, posteriormente – em laboratório – quanto à concentração e percentual de patologias espermáticas. Os resultados obtidos para turbilhonamento (3), motilidade (60%) e vigor (3) estavam dentro dos parâmetros mínimos estabelecidos para a espécie, porém a concentração espermática (341×10^6 spz/ml) revelou-se inferior ao preconizado. O número de patologias espermáticas encontradas (7,14%), contudo, foi baixo e situava-se dentro do padrão ideal para carneiros. Apesar de o sêmen coletado não ter atingido todos os parâmetros aceitáveis para ovinos, cumpriu-se com o objetivo deste projeto e comprovou-se a importância da análise andrológica para obtenção de um sêmen de qualidade.

Palavras-chave: eletroejaculação; reprodução; análise de sêmen.

ABSTRACT: Semen collection is a widely used method in Veterinary Medicine to evaluate the seminal quality of the breeding male by means of techniques and microbiological and laboratory analyzes. Therefore, the objective of this project was to analyze spermatic morphological changes of an animal of the ovine species through seminal collection by electroejaculation. To this end, semen was collected from a Hampshire Down sheep with an electroejaculator. The ejaculate was evaluated with an optical microscope – in the field – for gross motility, sperm motility and vigor and, after – in laboratory – for concentration and percentage of sperm pathologies. The results obtained for gross motility (3), motility (60%) and vigor (3) were within the minimum parameters established for the species, but the sperm concentration (341×10^6 spz/ml) was lower than recommended. The number of sperm pathologies found (7,14%), however, was low and within the ideal standard for sheep. Although the semen collected did not reach all acceptable parameters for sheep, the objective of this project was fulfilled and the importance of andrological analysis to obtain a quality semen was confirmed.

Keywords: electroejaculation; reproduction; semen analysis.

¹ Discentes do Curso de Medicina Veterinária, Nível 4 2017/2- Faculdade IDEAU – Bagé/RS.

² Docentes do Curso de Medicina Veterinária, Nível 4 2017/2 - Faculdade IDEAU – Bagé/RS.

*E-mail para contato: jpenelope.st@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A coleta de sêmen é um procedimento amplamente empregado na Medicina Veterinária em diversos animais de produção, uma vez que permite verificar, de forma aproximada, a aptidão reprodutiva e a qualidade seminal do macho reprodutor através de técnicas e exames microbiológicos e laboratoriais. Análises de volume, concentração, morfologia, motilidade e vigor do ejaculado determinam o desempenho reprodutivo do animal e, conseqüentemente, funcionam como ferramentas para melhoramento genético e para aplicação de biotécnicas como a inseminação artificial.

A motilidade, a concentração e a morfologia espermáticas são características avaliadas classicamente nas amostras de sêmen (ARRUDA et al., 2011).

Muitas são as fontes de variação da qualidade seminal de um e, um dos requisitos básicos no processo prévio de tecnologia do sêmen se baseia no uso adequado das técnicas de colheita, as quais podem exercer influência sobre a quantidade e qualidade do ejaculado, e conseqüentemente, a eficaz utilização dos reprodutores (RODRIGUES et al., 2005).

De acordo com BERBER apud TEIXEIRA (2009)

Para a coleta de sêmen são adotados métodos diferentes para cada objetivo, mas todos os métodos devem considerar o bem estar dos animais, um bom manejo e pessoas bem preparadas, pois é a partir de uma coleta de sêmen adequada que se dá início a um bom programa de melhoramento genético, garantindo espermatozóides viáveis para a disseminação do material genético superior.

Assim, para a realização da coleta, ressaltam-se, dentre os variados métodos, o uso da vagina artificial e a eletroejaculação.

Neste sentido, para execução deste projeto, obteve-se a amostra seminal de um animal da espécie ovina, a qual foi coletada por eletroejaculação com o intuito de se detectar anormalidades e de se efetuar testes de avaliação espermática.

A colheita de sêmen com vagina artificial (VA) é o método mais empregado dentro das centrais de inseminação artificial, por ser a técnica que mais se aproxima das condições fisiológicas (RODRIGUES et al., 2005).

Contudo, a técnica mais utilizada para realizar o exame andrológico em bovinos e nos animais impossibilitados de efetuarem a monta é a eletroejaculação (EEJ) (MIES FILHO apud FILHO et al., 2008).

Segundo Castelo e Silva (2014) a EEJ tem sido utilizada na avaliação andrológica de animais de produção de alto valor genético, quando estes apresentam alguma deficiência para a cópula ou não são condicionados a outros métodos, como a vagina artificial. Consiste na introdução do eletroejaculador no ânus do macho, e por meio de descargas elétricas leves, promove a ejaculação (GRANADOS et al., 2006).

Desse modo, este projeto não só proporcionou a aplicação de técnicas de avaliação andrológica e seminal, como também contribuiu para o aprendizado de diferentes métodos de coleta de sêmen e para o estudo do sistema reprodutor do ovino em geral. O objetivo do presente trabalho foi, portanto, efetuar a análise de alterações morfológicas espermáticas de um animal da espécie ovina mediante coleta seminal por eletroejaculação.

2 DESENVOLVIMENTO

Nesta parte do trabalho será detalhado o referencial teórico, a metodologia empregada e os resultados encontrados. Contém a exposição ordenada e pormenorizada do assunto tratado do estudo.

2.1 Referencial Teórico

Métodos de coleta de sêmen em ovinos

Para PEREIRA et al. (2009)

O método de coleta de sêmen por meio da vagina artificial (VA) conjugado com o manequim ou a fêmea viva (em cio ou não) é o mais empregado em pequenos ruminantes e consiste, essencialmente, em fazer com que o animal realize a cópula no aparelho adaptado para tal fim, de forma que a ejaculação se processe normalmente.

Ela imita as condições de temperatura e pressão da vagina da cabra ou ovelha (LIMA, 2000).

A vagina artificial para ovinos e caprinos consiste em um tubo rígido de borracha ou plástico, medindo aproximadamente 20 cm de comprimento e 4 a 5 cm de diâmetro, provido de uma válvula para possibilitar seu enchimento com água aquecida e ar. Internamente, possui uma membrana de borracha flexível cujo comprimento excede em 2 a 3 cm de cada lado para que seja dobrada e afixada com anéis de borracha nas extremidades do tubo rígido. (GONÇALVES et al., 2016, p. 86).

São imprescindíveis a lubrificação da mucosa de borracha e uma temperatura de 42 a 46 °C (PEREIRA et al., 2009). Basicamente, independente da espécie, o operador deve posicionar-se ao lado direito do macho (FEITOSA, 2004).

Segundo Lima (2000) no momento em que o animal monta (no manequim), faz-se o desvio do pênis introduzindo-o na vagina artificial, para que o animal ejacule no tubo de coleta que vem acoplado à vagina. O sêmen obtido será colocado em banho-maria à temperatura de 30°C (GONÇALVES et al., 2016).

O sêmen é colhido em condições próximas da ideal para posterior análise com finalidade de exame espermático e emprego para processamento, principalmente para uso de sêmen refrigerado e congelado, na dependência da espécie (FEITOSA, 2004).

Gonçalves et al. (2016) explica que a colheita de sêmen com eletroejaculação é utilizada em machos não treinados para vagina artificial ou impossibilitados para a cópula por lesões adquiridas.

Vários modelos estão disponíveis no mercado, consistindo basicamente de uma fonte de energia e um eletrodo bipolar em tamanho (comprimento e diâmetro) compatível para bovinos, ovinos, caprinos e felinos. Embora de fácil manuseio, requer habilidade para o uso e deve somente ser utilizado por indivíduos treinados e com experiência apropriada (FEITOSA, 2004, p. 413).

Antes da introdução do eletrodo retal, o pênis deverá ser exteriorizado por meio de pressão com uma das mãos no sentido de se desfazer a flexura sigmoide e simultaneamente com a outra mão faz-se pressão na extremidade prepucial próximo à glândula, com imediata fixação dessa extremidade com atadura de gaze (GONÇALVES et al., 2016, p. 90).

Segundo Batista (2008)

O eletroejaculador é introduzido no reto do animal, e, em contato com as glândulas acessórias, promove descargas elétricas leves que vão estimular essas glândulas a secretarem o plasma seminal, além de estimular a inervação parassimpática da medula espinhal, desencadeando o mecanismo de ejaculação como um todo.

Os estímulos elétricos serão aplicados inicialmente com pequena intensidade e aumento progressivo, por 3 a 8s de duração e 20 s de intervalo, ou conforme indicações do fabricante do equipamento (GONÇALVES et al., 2016).

A EE pode ocasionar algumas reações adversas como contrações musculares, agitação, vocalizações e ocasionalmente quedas (PALMER apud LIMA et al., 2010).

Para Hafez (2000) o volume de ejaculação é levemente superior do que das amostras colhidas com a vagina artificial e a concentração espermática é mais baixa. Além disso, o sêmen coletado através da eletroejaculação apresenta-se mais contaminado por bactérias e

células de descamação do epitélio prepucial, em função da maioria dos animais ejacular dentro da bainha prepucial (NEVES, 2015).

Anatomia e fisiologia da reprodução do ovino

O aparelho genital do macho é constituído pelos testículos, epidídimos, escroto, canal deferente, glândulas acessórias, o pênis e o prepúcio (MAIA, 2010).

Os testículos são as gônadas masculinas – os órgãos onde as células reprodutivas são formadas. Eles são normalmente ovais e o tamanho varia consideravelmente entre as espécies (COLVILLE e BASSERT, 2010).

Para Frandson et al. (2011, p. 321)

Os testículos do touro e dos pequenos ruminantes ficam próximos da flexura sigmoide (em forma de S) do pênis; o eixo longitudinal de cada testículo nessas espécies é quase vertical, de modo que o escroto do ruminante é alongado dorsoventralmente e pendular.

Os testículos têm duas funções principais: espermatogênese e produção de hormônios. A espermatogênese é o processo de produção dos espermatozoides, as células reprodutoras masculinas, nos túbulos seminíferos dos testículos (COLVILLE E BASSERT, 2010).

O tamanho dos testículos varia com a idade, peso corporal e estação do ano. No carneiro adulto e saudável, os testículos atingem cerca de 200-300 gramas [...]. Isso é importante porque o número de espermatozoides produzidos é correlacionado com o tamanho do testículo (MAIA, 2010).

Coville e Bassert (2010) afirmam que os espermatozoides são células longas e finas com três partes principais: uma cabeça larga, uma peça intermediária e uma cauda longa e estreita.

A cabeça contém o núcleo, que consiste principalmente em material genético condensado, e um acrossomo, uma bolsa membranosa que fica imediatamente sob a membrana plasmática no topo da cabeça e estende-se para baixo sobre todo o núcleo. A cauda tem uma parte central constituída de microtúbulos e filamentos que lhe proporcionam motilidade (FRANDSON et al., 2011, p. 333).

O epidídimo é um túbulo coletor e de armazenamento dos testículos. Ele começa no pólo dos testículos no qual entram os vasos sanguíneos e nervos, conhecido como cabeça do epidídimo. A cabeça continua ao longo de um lado do testículo como corpo do epidídimo, que termina, antes de fazer um contorno para cima, como cauda do epidídimo (REECE, 2008, p. 361).

A maturação dos espermatozoides, isto é a aquisição da motilidade e da capacidade de fertilização, ocorre na cabeça e no corpo do epidídimo, enquanto que as células maduras são armazenadas na cauda (MAIA, 2010).

Conforme Colville e Bassert (2010, p. 393)

Antes do nascimento, os testículos começam a se desenvolver na cavidade abdominal, perto dos rins. Eles estão conectados ao seu alojamento final e permanente no escroto por um feixe de tecido conjuntivo denominado gubernáculo [...]. [...] No momento do nascimento, ou logo após, os testículos descem pelos anéis inguinais até o escroto.

O escroto é o saco ou bolsa onde os testículos ficam alojados (MAIA, 2010). Em ruminantes, os testículos são mantidos com o eixo longo na vertical e, desse modo, possuem um escroto longo e pedular (KÖNIG e LIEBICH, 2011).

Frandsen et al. (2011) diz que a pele escrotal é fina, flexível e relativamente sem pelos (exceto em algumas raças de ovinos, em que a lã cobre o escroto).

Tem uma camada subcutânea de fibras musculares lisas, a túnica Dartus, que se contrai em climas frios, mantendo os testículos mais próximos da parede abdominal (REECE, 2008). A produção de espermatozoides ocorre normalmente a 4 –7° C abaixo da temperatura corporal (MAIA, 2010).

De acordo com Colville e Bassert (2010), um feixe de músculo, o músculo cremáster, passa pelo anel inguinal e prende-se ao escroto. Ele pode ajustar a posição dos testículos em relação ao corpo.

Os cordões espermáticos ligam os testículos com o restante do corpo. Eles são estruturas de tecido conjuntivo em forma de tubos que contêm vasos sanguíneos, nervos, vasos linfático e o ducto deferente (COLVILLE e BASSERT, 2010). O ducto deferente é um tubo muscular que sofre contrações peristálticas durante a ejaculação, impulsionando os espermatozoides do epidídimo para a uretra (FRANDSON et al., 2010).

Segundo Maia (2010), no final de cada ducto deferente (3 –4 cm) ocorre uma dilatação que é conhecida como ampola do canal deferente e serve como um reservatório de espermatozoides. Quando entram na uretra, os espermatozoides são misturados com secreções das glândulas reprodutivas acessórias para formar o sêmen, que é introduzido no trato reprodutivo da fêmea.

A uretra masculina se prolonga desde o óstio interno da uretra na extremidade caudal do pescoço da vesícula urinária até o óstio externo da uretra na extremidade livre do pênis (KÖNIG e LIEBICH, 2011).

Colville e Bassert (2010, p. 396) complementam

Na maior parte das vezes, ela transporta a urina da bexiga urinária para fora do corpo [...]. [...] Entretanto, quando há ejaculação, o fluxo da urina é temporariamente interrompido. Os espermatozoides do ducto deferente e as secreções das glândulas reprodutivas acessórias entram na uretra e são expelidos como sêmen.

As glândulas genitais acessórias situam-se na extensão da parte pélvica da uretra (KÖNIG E LIEBICH, 2011). As glândulas sexuais acessórias são formadas pelas amplas dos ductos deferentes, glândulas vesiculares, glândula prostática e glândulas bulbouretrais (REECE, 2008). [...] produzem o volume do ejaculado, ou sêmen, o meio de transporte dos espermatozoides (FRANDSON et al., 2010).

Maia (2010) afirma que a secreção das glândulas acessórias serve para nutrir o espermatozoide, manter seu metabolismo, limpar a uretra antes da ejaculação e lubrificar o pênis, facilitando a intromissão na vagina. A próstata distribui-se em torno da uretra, é pouco proeminente e possui vários canais excretórios (GONÇALVES et al., 2016).

Segundo König e Libebich (2011) o pênis se origina como dois pilares do arco isquiático. Os pilares convergem para formar a raiz do pênis, a qual prossegue como o corpo do pênis até a glândula do pênis.

O pênis é o órgão de acasalamento do macho. Ele é composto principalmente de músculo, tecido erétil e tecido conjuntivo, com a uretra passando por dentro. Ele recebe um enorme suprimento sanguíneo e muitas terminações nervosas sensoriais. Quando o macho está suficientemente excitado e estimulado, o tecido erétil é preenchido com sangue, provocando o aumento e o enrijecimento do pênis (COLVILLE e BASSERT, 2010, p. 397).

O diâmetro do pênis fibroelástico (como o encontrado em ruminantes e suínos) não aumenta muito durante a ereção. Em vez disso, o principal efeito da ereção peniana nesses animais é um alongamento do órgão pelo estiramento da flexura sigmoide (FRANDSON et al., 2010).

Maia (2010) acrescenta

A extremidade do pênis formada por tecido esponjoso é denominada glândula. Externamente à glândula do pênis existe uma pequena prolongação da uretra chamada apêndice vermiforme ou processo uretral, que gira rapidamente durante a ejaculação para pulverizar o sêmen na parte anterior da vagina da fêmea.

Prepúcio é uma prega invaginada de pele que envolve a extremidade livre do pênis (REECE, 2008). A parte externa do prepúcio é composta por pele normal, mas a parte interna que está em contato com o pênis é uma membrana mucosa úmida e lisa (COLVILLE e BASSERT, 2010).

O ciclo completo de formação e maturação dos espermatozoides no carneiro e no bode, dura cerca de dois meses (MAIA, 2010).

Sêmen e sua composição

Conforme Gonçalves et al. (2016, p. 85)

O sêmen é constituído por células espermáticas e uma fração líquida denominada plasma seminal. A porcentagem de espermatozoides em relação à composição do plasma seminal é particularmente elevada no carneiro (30%) e no bode (25%) em relação às demais espécies.

O plasma seminal é a mistura de fluidos produzidos nos testículos, epidídimos, canal deferente e pelas glândulas sexuais, principalmente pela vesícula seminal (MAIA, 2010). [...] funciona como um meio de transporte para os espermatozoides e contém uma variedade de substâncias, inclusive diversos eletrólitos, frutose, ácido cítrico e sorbitol (FRANDSON et al., 2010).

Essas substâncias exercem importante influência na sobrevivência das células espermáticas, servindo como indicadores de patologias do aparelho reprodutor masculino e estão intimamente relacionadas à congelabilidade do sêmen (GONÇALVES et al., 2016).

Maia (2010) explica que

A composição do sêmen varia entre as espécies. O volume e a concentração de espermatozoides no ejaculado variam com a anatomia (tamanho do testículo) e atividade reprodutiva ou frequência de coletas. Além das variações individuais, fatores como idade, condições climáticas, nutrição e frequência de ejaculação podem afetar a quantidade e qualidade do sêmen.

Avaliação do sêmen ovino

Para Cardozo et al. (2002) a análise do sêmen talvez seja a parte mais importante na avaliação da fertilidade do macho [...].

No que se refere a avaliação do sêmen podemos observar vários itens como: turbilhonamento (movimento em forma de ondas do sêmen de ruminantes), aspecto do sêmen (cremoso, aquoso, presença de sangue ou urina), volume, número de espermatozoides, avaliação morfológica dos espermatozoides, além da diluição,

conservação e manipulação no caso de uso de sêmen para resfriamento ou congelamento (FERREIRA e GONÇALVES, 2016, p. 85).

Após a coleta, cada ejaculado deve ser avaliado quanto a sua quantidade e qualidade (MAIA, 2010).

A avaliação macro e microscópica do material seminal permitem determinar a qualidade, viabilidade e fertilidade dos espermatozoides. Não se dispõe de uma prova única para detectar com exatidão a fertilidade dos ejaculados individuais, porém quando se combina cuidadosamente várias delas, podem-se selecionar os ejaculados para utilizar os que tenham um potencial de fecundação mais elevado entre os demais (AISEN apud LUCENA, 2010).

Segundo Cardozo et al. (2002) o exame macroscópico inclui a avaliação visual do ejaculado com relação a volume, aspecto, densidade e movimento de massa, dentre outros itens.

Volume: o volume do ejaculado varia entre 0,5 a 3 mL, variável conforme a excitação prévia do carneiro, estado sanitário, nutricional, idade e época do ano (FERREIRA e GONÇALVES, 2016). [...] medido pela leitura direta no copo coletor, ou em pipeta de vidro graduada (GONÇALVES et al., 2016).

Gonçalves et al. (2016, p. 91) considera que o aspecto deve ser definido

Mediante avaliação visual, representa a cor e a aparência do ejaculado. A cor poderá ser branca ou marfim no carneiro [...]. [...] A aparência poderá ser caracterizada como cremosa, leitosa, opalescente, serosa ou aquosa, conforme a concentração espermática.

A presença de sangue deixa o sêmen com coloração avermelhada e infecções no trato reprodutivo deixam o sêmen com coloração cinza ou marrom (MAIA, 2010).

Densidade:

A densidade do sêmen depende e muda de acordo com a concentração de células espermáticas. As determinações de densidade por inspeção visual dependem da pessoa que realiza a avaliação e, dessa forma, apenas dão uma ideia aproximada da concentração de células espermáticas (CARDOZO et al., 2002, p. 31).

Turbilhonamento (ou movimento de massa): onde se observa o movimento em massa dos espermatozoides, ondas visíveis (FERREIRA e GONÇALVES, 2016).

Segundo Maia (2010), pessoas com visão acurada podem observar o movimento das ondas através do tubo de coleta, mas uma avaliação precisa só pode ser realizada com o uso de microscópio.

Pode-se, também, avaliar o sêmen microscopicamente quanto aos seguintes parâmetros:

Motilidade: É a quantidade de células em movimento. Neste parâmetro é avaliada a porcentagem de espermatozoides móveis por campo de lâmina (FERREIRA e GONÇALVES, 2016). Deve ser realizado imediatamente após a colheita do sêmen. Sofre influência direta do tempo, da temperatura, concentração, contaminação e método de avaliação (FEITOSA, 2004).

Conforme Gonçalves et al. (2016), para essa avaliação, utiliza-se microscópio, preferencialmente binocular, com objetiva de 10 ou 40X e a lâmina coberta por lamínula, previamente aquecida e mantida a 37°C.

Vigor: Representa a força do movimento que acaba influenciando a velocidade com que os espermatozoides se movimentam (GONÇALVES et al., 2016). Pode ser classificado de 0 a 5, onde 0 representa a ausência de movimento progressivo e 5 representa um movimento rápido e progressivo dos espermatozoides (FERREIRA e GONÇALVES, 2016)

Turbilhão (turbilhonamento): De acordo com Ferreira e Gonçalves (2016) é o resultado do movimento progressivo dos espermatozoides [...].

Para se proceder à sua avaliação, coloca-se uma gota de sêmen sobre uma lâmina, previamente aquecida a 37°C, levando-a a um microscópio com objetiva de 10 a 20X. A interpretação, subjetiva, deverá ser expressa em uma classificação de 0 a 5, em que 0 significa ausência de movimento e 5 o valor máximo (GONÇALVES et al, 2016, p.91).

Concentração: É a medida usada para determinar o número de espermatozoides por unidade de volume. Normalmente é expressa em número de espermatozoides por mm³ ou por mL (MAIA, 2010).

Ferreira e Gonçalves (2016, p. 87) acrescentam

Determinado de forma subjetiva conforme aparência e cor do ejaculado com valores de 5 (cremosa espessa) a 0 (aquosa), ou objetivamente por câmara de contagem microscópica, que pode ser Neubauer, e outros.

Morfologia:

O exame da morfologia espermática é um dos itens componentes do exame espermático no contexto de uma avaliação andrológica. Os ejaculados possuem certa porcentagem de células com defeitos na sua morfologia, mas que não interferem na fertilidade (FERREIRA e GONÇALVES, 2016).

[...] o ejaculado contém cerca de 5 a 10% de espermatozoides anormais, sem ter nenhum efeito adverso na fertilidade, mas se o percentual de células anormais for maior que 20-25% pode-se esperar uma redução na fertilidade do sêmen (MAIA, 2010).

De acordo com Ferreira e Gonçalves (2016, p. 87)

Um ejaculado que apresente grande quantidade de caudas dobradas, caudas enroladas e gotas (proximais e distais) tem sua qualidade diminuída, pois espermatozoides com estas patologias terão o movimento comprometido, diminuindo assim as chances de fecundação.

[...] sua utilização compromete os resultados de um programa de inseminação ou inviabiliza a criopreservação espermática (GONÇALVES et al., 2016).

2.2 Material e Métodos

Para a realização deste projeto, coletou-se o sêmen de um animal da espécie ovina pertencente à raça Hampshire Down por método de eletroejaculação. O procedimento, efetuado por um Médico Veterinário, ocorreu em uma propriedade rural localizada nos arredores da cidade de Candiota (RS) na manhã do dia 23/09/2017.



Figura 1 – Ovino utilizado para a coleta – Foto: Santos, J. P., 2017. Faculdade IDEAU, Bagé, RS.

Durante o exame andrológico, constatou-se que o carneiro, o qual apresentava idade aproximada de 5 anos e peso corporal aproximado de 105 kg, possuía score corporal 3, perímetro escrotal de 34 cm e testículos sem alterações aparentes (SAA).

Em seguida, conteve-se o animal em estação e inseriu-se no reto desse uma probe sonda banana com três eletrodos longitudinais posicionados ventralmente. A sequência de estímulos elétricos liberados pelo eletroejaculador provocou a ejaculação e o sêmen coletado foi, então, imediatamente avaliado visual e microscopicamente.

Portanto, depositou-se com o auxílio de uma pipeta uma gota do sêmen, identificado visualmente com aspecto leitoso e cor branca, sobre uma lâmina que foi examinada em microscópio óptico com o intuito de se determinar o turbilhonamento, a motilidade e o vigor espermático apresentado pelo carneiro.

Por fim, armazenou-se em um eppendorf 20 μ l (microlitros) de sêmen em 1 ml de formol salino tamponado (diluição de 1:200) para posterior análise de concentração e morfologia espermática.



Figura 2 – Sêmen armazenado em eppendorf – Foto: Mieres, F., 2017. Faculdade IDEAU, Bagé, RS.

No dia 03/10/2017, deu-se continuidade aos procedimentos de avaliação seminal no Laboratório da Faculdade IDEAU (Campus Bagé), onde o eppendorf contendo a amostra de sêmen diluída encontrava-se refrigerado desde data prévia. Primeiramente, colocou-se com uma pipeta uma gota de sêmen em uma câmara de Neubauer devidamente montada, preenchendo-se seus dois retículos por aspiração.



Figura 3 – Câmara de Neubauer – Lopes, L.,2017. Faculdade IDEAU, Bagé, RS.

Logo, utilizando um microscópio óptico com aumento de 40x, procedeu-se a contagem de espermatozoides existentes em cada um dos cinco quadrantes de cada retículo da câmara de Neubauer e, após a leitura, calculou-se a média aritmética a fim de se avaliar a concentração espermática do ovino.

Simultaneamente, tendo como propósito verificar a morfologia espermática, utilizou-se uma pipeta para depositar uma gota de sêmen do carneiro na extremidade de uma lâmina de microscopia limpa. Então, com o auxílio de outra lâmina de microscopia (extensora), criou-se uma fina película de sêmen sobre a primeira lâmina, obtendo-se um esfregaço uniforme.

Fixou-se o esfregaço e, a seguir, mergulhou-se a lâmina seca em intervalos de 1 minuto em cada um dos três corantes de um Kit Panótico. Depois, deixou-se a lâmina escorrer e secar rapidamente a temperatura ambiente.

Finalmente, uma média de 210 células da lâmina corada foi avaliada em microscópio óptico em relação a patologias espermáticas e classificada de acordo com seus defeitos maiores e menores.

2.3 Resultados e Discussão

Os resultados obtidos com este experimento foram satisfatórios. O aspecto apresentado pelo ejaculado e os valores de turbilhonamento, vigor e motilidade espermática estavam dentro dos parâmetros mínimos estabelecidos para a espécie, conforme Quadro 1:

Quadro 1: Variáveis físicas do sêmen do carneiro

Variáveis	Valores
Volume	Não identificado
Cor	Branca
Aspecto	Leitoso
Turbilhonamento (0-5)	3
Vigor (0-5)	3
Motilidade (%)	60%

Um estudo realizado com enfoque na reprodução e qualidade de sêmen de carneiros no Nordeste do Brasil descreveu o sêmen ovino como sendo de cor perolada ou marfim (MAIA et al., 2011). Coloração semelhante foi relatada por Hafez (2004) ao caracterizar o aspecto do ejaculado de carneiros de branco leitoso ou cremoso pálido.

O Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998) preconiza o valor médio seminal desejável para o vigor ovino de 3, além de um turbilhonamento de valor 3 para efeito de seleção de carneiros para monta natural. Esses dados corroboram os citados por Barbosa e Storillo (2006). No entanto, o valor ideal tanto para o turbilhonamento como para o vigor espermático de carneiros está entre 4 a 5 (BARBOSA e STORILLO, 2006).

Nunes apud Ferra e Sereno (2006) também definiu um espermograma ideal ovino com turbilhonamento maior que 3.

No que se refere à motilidade do carneiro reprodutor, Rovai (2017) estipulou a porcentagem ideal esperada como superior a 70%. Informações equivalentes foram descritas por Bicudo et al. (2008).

De acordo com o CBRA (1998) o padrão seminal desejável para motilidade espermática de carneiros é de 75 % e para seleção de carneiros para monta natural em torno de 70%. Em outra publicação, a porcentagem comumente encontrada de espermatozoides móveis também foi colocada na faixa dos 70 a 90 % (HAFEZ, 2004).

No entanto, segundo Gonçalves et al. (2016) uma amostra de sêmen ovina deverá apresentar um mínimo de 60% de motilidade para ser utilizada. Barbosa e Storillo (2016) concordam com esse dado e Borges e Gonçalves (2002) determinam o percentual de 60% para motilidade espermática como sendo satisfatório.

Os resultados citados pela literatura em relação as variáveis físicas mínimas desejáveis do sêmen ovino representadas no Quadro 1 condizem, portanto, com os encontrados no projeto em questão.

Além disso, no que concerne a concentração espermática, o sêmen analisado do carneiro Hampshire Down revelou quantidade de apenas 341 milhões de espermatozoides/ml (341×10^6 sptz/ml). Esse valor está bem abaixo dos 3 bilhões de espermatozoides/ml (3×10^9 sptz/ml) recomendados para ovinos pela CBRA (1998).

Outro autor determina que a concentração espermática normal do carneiro varie de $3,5 \times 10^9$ a $6,0 \times 10^9$ espermatozoides por ml (HAFEZ, 2004). Em outros estudos, Maia et al. (2011) e Barbosa e Storillo (2017) concordam com essa colocação.

É importante ressaltar, porém, que esse resultado pode ser uma consequência do método de coleta utilizado, uma vez que a baixa concentração espermática e o sêmen de qualidade inferior são umas das desvantagens da eletroejaculação.

Para Hafez (2004) as coletas por EE são muito variáveis quanto à concentração espermática e o volume [...]. Granados et al. (2016) concorda que é um método pouco usado na espécie ovina e caprina, pois o sêmen é de baixa concentração e qualidade [...].

Tem a desvantagem de causar estresse e desconforto aos animais, podendo também haver a presença de urina no ejaculado. O volume e a concentração espermáticos irão variar dependendo do animal e da habilidade do coletor (GONÇALVES et al., 2016).

Contudo, outros fatores, como raça, idade, estado nutricional, estação do ano e, até mesmo, falhas durante o processo de coleta podem interferir na característica do ejaculado, diminuindo sua qualidade.

Dessa forma, ainda que a concentração espermática obtida neste trabalho seja inferior a desejável para carneiros adultos e não qualifique o sêmen do animal coletado para comercialização, alterações devido à metodologia escolhida estão previstas na bibliografia empregada.

A leitura das características morfológicas do sêmen do Hampshire, no entanto, revelou baixo percentual de patologias espermáticas.

De acordo com a classificação proposta por Blom (1973), as patologias espermáticas são divididas em defeitos maiores e defeitos 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 (MONREAL et al., 2012).

Verificou-se que o percentual de defeitos maiores e menores encontrado neste projeto foi de 4,16% e 2,38%, respectivamente. Portanto, a média do percentual total de defeitos foi de 7,14%, segundo Quadro 2.

Quadro 2: Percentual de patologias encontradas

Classificação dos defeitos maiores	Porcentagem de defeitos maiores	Classificação dos defeitos menores	Porcentagem de defeitos menores
Acrossomo pequeno	0,95 %	Cabeça delgada	0,95 %
Cabeça atrofiada	0,95 %	Cabeça isolada normal	1,42%
Cauda fortemente dobrada ou enrolada	2,85%		
	Total: 4,16%		Total: 2,38%

Rovai (2017) afirma que as anormalidades/defeitos espermáticos em carneiros devem ser inferiores a 20%. Na espécie ovina, quando 20% ou mais espermatozoides são anormais a fertilidade do carneiro é questionável (Hafez, 2004).

Já Barbosa e Storillo (2006) defendem que para pequenos ruminantes o percentual de defeitos maiores aceito é de até 5% e de defeitos menores de no máximo 10%.

Assim sendo, os valores ilustrados no Quadro 2 estão dentro dos preconizados para a espécie ovina.

Enfim, apesar de o sêmen avaliado não ter atingido todos os parâmetros ideais para um reprodutor ovino apto à reprodução ou para comercialização - em razão, talvez, da técnica de coleta escolhida - cumpriu-se com o objetivo deste projeto e alcançou-se resultados coerentes e compatíveis com aqueles referenciados pela literatura.

3 CONCLUSÃO

Este projeto aliou teoria a prática ao proporcionar o estudo e aplicação de técnicas de análise e processamento de sêmen ovino através de coleta por eletroejaculação para, sobretudo, identificar características físicas seminais e patologias espermáticas.

Frente aos resultados discutidos, é possível perceber a importância da correta avaliação andrológica e espermática para a escolha de um reprodutor apto e para a obtenção de um sêmen de qualidade.

Desse modo, sugere-se, com a finalidade de agregar conhecimento na área de reprodução animal e experienciar diversos métodos de coleta de sêmen, a elaboração de pesquisas similares por estudantes de Medicina Veterinária.

REFERÊNCIAS

ARRUDA, R.P. et al. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.145-151, abr./jun. 2011. Disponível em: <<http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v35n2/RB385%20Arruda%20145-151.pdf>> Acesso em: 25 ago. 2017.

BARBOSA, D.A.; STORILLO, V.M. **Importância do exame andrológico na escolha do reprodutor**. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/ovinos-e-caprinos/importancia-do-exame-andrologico-na-escolha-do-reprodutor-parte-2-31183n.aspx>> Acesso em: 10 out. 2017.

BATISTA, L.B. **Avaliação de sêmen caprino diluído em água de coco em pó e mantido sob refrigeração**. Patos: 2008. 36f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, 2008).

BICUDO, S.D. et al. **Aspectos peculiares da inseminação artificial em ovinos**. Disponível em: <<http://adcon.rn.gov.br/ACERVO/EMPARN/DOC/DOC0000000000001367.PDF>> Acesso em: 10 out. 2017.

BLOM, E. Ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nord Vet Med**, v.25, p.383-391. 1973.

BORGES, I.; GONÇALVES, L.C. **Manual prático de caprino e ovinocultura**. Belo Horizonte, 2002. Disponível em: <<https://docs.ufpr.br/~freitasjaf/artigosovinos/apostilacapriov.pdf>> Acesso em: 10 out. 2017.

CARDOZO, J.A. et al. **Evaluación Reproductiva del Macho Bovino en Condiciones Tropicales**. Colombia: Corpoica, 2002.



CASTELO, T.S.; SILVA, A.R. Eletroejaculação em mamíferos silvestres: principais fatores que afetam sua eficiência. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.38, n.4, p.208-213, out./dez. 2014. Disponível em:

<[http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v38n4/pag208-213%20\(RB529\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v38n4/pag208-213%20(RB529).pdf)> Acesso em: 25 ago. 2017.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2. ed. Belo Horizonte, 1998.

COLVILLE, T.; BASSERT, J. M. **Anatomia e Fisiologia Clínica para Medicina Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca, 2004.

FERRA, J.C.; SERENO, J.R.B. **Inseminação artificial em ovinos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2006.

FERREIRA, O.G.L; GONÇALVES, M.S. **Ovinocultura**. Pelotas: EDUCAT, 2016.

FILHO, W.C.M. et al. Avaliação do estresse em touros Nelore (*Bos taurus indicus*) submetidos à eletroejaculação. **Vet. e Zootec.**, v.15, n.3, dez., p.531-541, 2008. Disponível em: < <http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/article/view/483/374>> Acesso em: 25 ago.2017.

FRANDSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAILS, Anna Dee. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

GRANADOS, L.B.C. et al. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos**. 1. ed. Rio de Janeiro: PROEX/UENF, 2006.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2016.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 2000.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido**. 4. ed. São Paulo: Artmed, 2011.

LIMA, A.J.; Coleta, **Conservação de sêmen e inseminação artificial de caprinos e ovinos**. Disponível em: <

<http://www.serratalhada.net/meioambiente/mostra.asp?noticia=noticia22.asp>> Acesso em: 25 ago. 2017.

LIMA, L. F. Coleta de sêmen ovino em estação ou decúbito lateral utilizando diferentes eletroejaculadores. **Ci. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 410-416, abr./jun. 2010.

Disponível em: < <http://revistas.bvs-vet.org.br/cab/article/view/8663/9068>> Acesso em: 25 ago. 2017.



LUCENA, J.A. O. **Inseminação artificial em ovinos**. Patos: 2010. 50f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, 2010).

MAIA, M.S. **Tecnologia do sêmen e inseminação artificial em caprinos e ovinos**. Natal: EMPARN, 2010.

MONREAL, A.C.D. et al. Morfologia espermática de carneiros nativos. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.** UNIPAR, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 19-23, jan./jun. 2012. Disponível em: <revistas.bvs-vet.org.br/acvzunipar/article/download/16292/17164> Acesso em: 10 out. 2017.

NEVES, B.P. **O uso da vagina artificial interna para a coleta de sêmen de touros bubalinos (*Bubalus bubalis*) com diferentes experiências sexuais**. 2015. 52f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

PEREIRA, L.C. et al. **Produção de um modelo alternativo de vagina artificial para coleta de sêmen de caprinos e ovinos**. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0579-2.pdf>> Acesso em: 25 ago. 2017.

REECE, W. O. **Anatomia funcional e fisiologia dos animais domésticos**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008.

RODRIGUES, L.F.S. et al. **Parâmetros físicos, morfológicos e bioquímicos do sêmen de ovinos da raça santa Inês criados no Estado do Ceará**. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/533186/1/RAAParametrosfisicos.pdf>> Acesso em: 25 ago. 2017.

ROVAI, F.M..O. **Caprinocultura e Ovinocultura**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2017.

TEIXEIRA, L.V. **Estudo da coleta e processamento do sêmen bovino**. São Paulo, 2009. 37f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária - Curso de Medicina Veterinária, Faculdades Metropolitanas Unidas, 2009).