AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO E MOTILIDADE ESPERMÁTICA DE DOIS GARANHÕES EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO

João Paulo Ribeiro⁽¹⁾; Luan Gavião Prado⁽²⁾; Flávia Adelaide Santos⁽¹⁾; Gilberto Capistrano⁽²⁾ Eduardo Souto de Castro Castricini⁽²⁾

RESUMO

O sêmen equino sofre uma considerável queda na qualidade nos meses de inverno, época em que o tempo de luminosidade do dia é menor quando comparado com os meses de verão. Durante os meses de inverno há maior produção e liberação de melatonina, hormônio responsável por bloquear os hormônios da reprodução, e, consequentemente há alteração espermática. Este trabalho tem como objetivo mensurar os efeitos da luminosidade sobre a motilidade e concentração espermática do sêmen de equinos da raça Quarto de Milha. Foram realizadas duas coletas de sêmen de dois garanhões da raça Quarto de Milha (verão e inverno), no municípios de Delfim Moreira, Minas Gerais, cada coleta contou com três repetições, intervaladas de 48 horas. Foi encontrado uma diminuição mais consistente na concentração espermática quando comparamos as duas estações do ano (verão e inverno), já a motilidade se manteve um equilíbrio nas duas estações.

Palavras-chave: Equinos; Sazonalidade; Dias longos; Espermatozóides.

INTRODUÇÃO

espécie equina possui reprodutivo estacionário sofrendo influência do fotoperiodo. Receptores presentes na retina do animal captam o estímulo da luz e o transformam em estímulo nervoso até a glândula pineal. Esta glândula é responsável pela produção e liberação de melatonina que ocorre na ausência de luz. Sendo assim, os egüinos são considerados animais estacionais de dias longos, ou seja, a reprodução só ocorre quando há ausência de melatonina na circulação sanguínea. A melatonina responsável pela inibição da secreção de GHRH pelo hipotálamo, este hormônio tem como função a indução da liberação de FSH e LH pela hipófise (CUNNINGHAM, 2006)

O sistema reprodutivo do garanhão, assim como o da égua, tem principal hormônio regulador hipofisário, o GnRH, atuando na atividade produtora e liberadora de hormônios gonadotróficos. . Sua função é fornecer ligação humoral entre o sistema endócrino e nervoso e sua liberação ocorre no sistema porta hipotálamo-hipofisário, promovendo a liberação de LH e FSH pela hipófise anterior.(HAFEZ E HAFEZ, 2004)

O FSH é responsável pela estimulação das células germinativas presentes nos túbulos seminíferos dos testículos, sendo as

mesmas responsáveis pela espermatogênese até o estágio de espermatócitos secundários. A secreção de FSH é controlada pelo aumento de inibina, hormônio produzido e liberado na circulação pelas células de Sertoli, na circulação. (HAFEZ E HAFEZ, 2004)

As células de Leydig produzem andrógenos após a ação do LH, indiretamente este hormônio também é responsável pela maturação espermática, pois a testosterona, um andrógeno liberado por aquelas células atua diretamente nos túbulos seminíferos. Além disso, é também responsável pelo desenvolvimento e manutenção das glândulas sexuais acessórias, estimulação do comportamento sexual e das características sexuais secundárias.(LEME, 2003)

A avaliação seminal deve ser realizada com intuito de se determinar a fertilidade do ejaculado do garanhão. São avaliados parâmetros macroscópicos e microscópicos. Dentre os macroscópicos pode-se citar o volume e o aspecto e dentre os microscópicos citam-se a motilidade espermática, vigor e as patologias maiores e menores.(LUCENA et.al 2014)

Atualmente, com o advento das biotecnologias empregadas na reprodução equina e a dificuldade de deslocamento do garanhão, pode-se lançar mão do envio de sêmen para o local onde se encontram as éguas. O transporte deste material pode ser

¹ Estudante do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário de Itajubá – FEPI

² Professor, mestre, do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário de Itajubá – FEPI

feito em caixas de transporte resfriadas a temperaturas inferiores a 15° C, variando de acordo com o tempo gasto entre as localidades e em qual biotecnologia o sêmen será aplicado.(NUNES 2006)

Devido a ação da melatonina sobre o eixo hipotalamico-hipofisário, inibindo a liberação de GNRH, acredita-se que nos períodos de dias curtos e noites longas, o garanhão possa apresentar uma redução na espermatogênese e, conseqüentemente, na qualidade seminal.(LUCENA et al., 2014)

Esse trabalho tem como principal objetivo avaliar o efeito da luz sobre a motilidade e concentração espermática, nas diferentes estações do ano no verão e no inverno.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na cidade de Delfim Moreira-MG no Haras Serra Bonita onde estão alojados os garanhões da raça quarto de milha que mantém o mesmo regime de manejo e nutrição. Eles são submetidos a exercícios diários para manutenção da vida atlética. A alimentação é dividida em 6 vezes durante o dia sendo alternados entre concentrado(ração comercial) e volumoso(feno) seguindo a sequência de concentrado e depois volumoso,ambos os garanhões comem 4 Kg de ração comercial por dia.

Foram realizadas três coletas de sêmen em dois garanhões com um intervalo de quarenta e oito horas entre as coletas que vão ser feitas, no mês de fevereiro e no mês de julho.

As coletas foram realizadas com o animal em estação utilizando vagina artificial de fabricação própria, utilizada no haras e com a qual os garanhões já estão habituados

Todos os materiais utilizados na coleta são aquecidos a temperatura de 37°C com o auxílio de uma placa aquecedora¹ exceto a água utilizada para preencher a vagina artificial que será preenchida com água com a temperatura de 50°C.

No sêmen a fresco foi avaliado os parâmetros volume, aspecto sendo estes parâmetros macroscópicos. Além de ser avaliado motilidade, vigor sendo estes avaliados em microscópio óptico².

Uma amostra do ejaculado e conservada em formol salino a 5% . A partir desta amostra foi feita a avaliação da concentração e das patologias, maiores e menores (HAFEZ E HAFEZ, 2004).

Flaconetes contendo formol salino 5% para conservação da amostra de sêmen destinada a avaliação de concentração e patologias.

A motilidade foi classificada em porcentagem de 0 a 100 e o vigor numa escala de 0 a 5. Para a contagem dos espermatozóides e a avaliação das patologias será utilizada câmara de neubauer. A contagem em câmara de neubaer foi feita em forma de (L) nos quadrados da mesma .

As coletas foram ser diluídas com diluente³ na proporção de 3/1 na seqüência de três partes de diluente para uma parte de sêmen.

O sêmen é resfriado após diluição para reavaliação após 24 horas onde foi avaliado motilidade e vigor alem das patologias espermáticas. O resfriamento vai foi feito utilizando a caixa de transporte botuflex®, respeitando o seu protocolo de manuseio a fim de atingir a temperatura de 5 °C.

Para avaliação estatística foi utilizado o programa estatístico BioEstat®. Após registro dos dados no programa Excel® os mesmos foram submetidos à análise. Paras as variáveis não paramétricas e/ou dicotômicas foi utilizado o teste de χ^2 e para as variáveis paramétricas o teste de ANOVA que foi confirmada através do Teste t de Student. Foi utilizado 95% de grau de confiança (p<0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi encontrado valores de concentração espermática dentros dos estabelecidos para a espécie. A concentração e motilidade foram maiores na segunda coleta do cavalo 1, porém não houve diferença significativa de concentração e motilidade entre as três coletas realizadas durante o verão, e houve diferença entre a avalição no momento da coleta e após 24 horas, conforme demonstrado pelo Figura1.

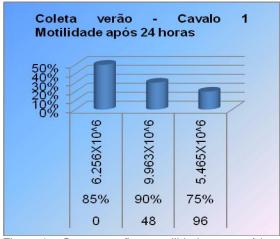


Figura 1 – Concentração e motilidade espermáticas do cavalo 1 em três coletas espaçadas de 48 horas, durante o verão.

¹ Eletrovet, São Paulo, São Paulo, Brasil.

² TASCO No 875468.

³ Botusemen, Botupharma, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Segundo Hafez e Hafez (2004), a concentração espermática de equino varia entre 150 a 300 milhões de espermatozóides por mililítros. Os valores encontrados nestre trabalho estão de acordo com o citado pela literatura.

Nas coletas realizas no garanhão 1 durante o inverno, foi encontrada uma maior na motilidade e na variação concentração quando comparamos a primera coleta com a segunda e obsevamos essa mesma difereça na comparação da segunda coleta para a terceira. A diminuição da motilidade espermática foi muito mais significativa quanto maior a concentração espermática do sêmen coletado, como pode ser observado na Figura 2. Além disso, houve grande diferença entre os valores de concentração espermática nas coletas de verão e inverno.

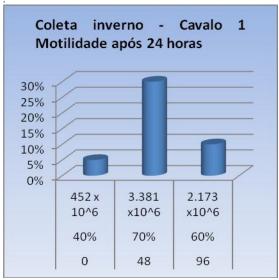
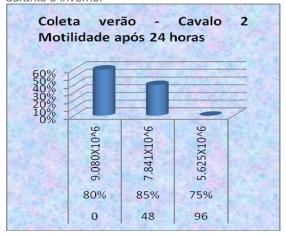


Figura 2 – Concentração e motilidade espermáticas do cavalo 1 em três coletas espaçadas de 48 horas, durante o inverno

A concentração espermática sofre grande variação durante os meses de inverno em comparação com o verão onde os dias são mais longos e consequentemente há menor liberação de melatonina, responsável pela diminuição da liberação de GnRH durante os meses de inverno (LUCENA et al., 2014).

No garanhão 2 foi observado um equilíbrio nos parâmetros avaliados (motilidade e concentração), contudo houve uma queda bastante abrupta na motilidade após 24 horas de resfriamento com a coleta 3 o mesmo não aconteceu com as 2 primeiras coletas

Figura 3 — Concentração e motilidade espermáticas do cavalo 2 em três coletas espaçadas de 48 horas, durante o inverno.



Falhas na técnicas de resfriamento, tais como eliminação do estado asséptico seminal e na montagem da caixa de transporte podem interferir na motilidade do semên que será resfriado isso justificaria a queda grande obtida na motilidade após 24 horas na terceira coleta. (CARVALHO et al., 2010)

Nas coletas realizadas no inverno com o cavalo 2 obteve-se valores de concentração e motilidade com pouca variação, exceção se faz na coleta no tempo 0 em que a concentração espermática foi mais elevada em comparação com as coletas nos tempos 48 e 96 que se mantiverm equivalentes. Ainda pode-se observar uma queda maior na motilidade após 24 horas na coleta do tempo 96, o mesmo não acontece nas coletas dos tempos 0 e 48 como demostrado na Figura 4



Figura 4 — Concentração e motilidade espermáticas do cavalo 2 em três coletas espaçadas de 48 horas, durante o inverno.

A motilidade avaliada neste trabalho teve alterações mínimas quanto comparada entre as estações do ano. O mesmo não foi visto na concentração espermática parâmetro

de demonstrou uma diminuição bastante significativa entre as estações do ano isso se confirma em HAFEZ e HAFEZ (2004) que citam uma influência maior do fotoperiodo no espermatogênese do que no espermatozóide propriamente dito.

A temperatura e uma umidade elevada no verão são fatores que comprometem a espermatogênese contudo neste trabalho demostrou ao contrário do que foi encontrado por Lucena et al. (2014) quando mensurou os efeitos do verão sobre o semên equino.

A ausência de luz no inverno influencia a produção e maturação dos epermatozóides, por isso a queda de concentração de espermatozóides no inverno em comparação com verão se faz tão visível neste trabalho (DUKES 2006).

CONCLUSÕES

A espécie equina sofre grande influência da luz durante a espermatogênese.. A estação do ano influencia características qualitativas do sêmen e nos níveis de hormônios (como por exemplo, a testosterona) que por sua vez é responsável pela produção e maturação do espermatozóide. Concluimos que no período do inverno, a concentração espermática cai de maneira significativa em ambos os cavalos avaliados.

Os efeitos do resfriamento no sêmen foram mínimos pois a diferença entre as avaliações feitas no momento da coleta e após 24 horas de resfriamento estão dentro dos esperados, a não ser pela coleta 3 da Figura 2 que obtivemos um resultado abaixo do esperado.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, G.R.; RATES, D.M.; LOURENÇO, G.G.; PUGUESI, G.; KER, P.G.; OLIVEIRA, R.R.; SANTOS, M.C.R. III Curso de inseminação e criopreservação de sêmen de eqüídeos. Viçosa. 2010

CUNNINGHAM, J.G.; KLEIN, B.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 4ª Ed. Rio de Janeiro. Elsevier. 2008

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**.7ªed. Barueri. Manoele. 2004.

LEME, D.P. Caracteristicas reprodutivas de garanhões mantidos sob luz natural ou contínua, em ambiente tropical. 2003. 92f. Dissertação (Doutorado em reprodução animal). Unesp —Botucatu.

LUCENA, C.A.O.; MAIA, M.S.; MAIA, J.J.A.; SILVA, G.F.; SOUSA, T.M.L.; MOURA, C.E.B. Influência da época do ano sobre os parâmetros seminais de garanhões pôneis. Acta Veterinária Brasilica. V.8. supl.2. 2014.

NUNES, D.B.; ZÚCCARI, C.E.S.N.; SILVA, E.V.C. Fatores relacionados ao sucesso da inseminação artificial de éguas com sêmem refrigerado. <u>Bras Reprodução Animal</u>. Belo Horizonte. V.30. p.42-56.2006. Disponível em: http://www.cbra.org.br

REECE, W.O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 12ªed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2006

SILVA, K.M.G. Efeito da estacionalidade e da adição de antioxidantes em algumas características espermáticas em eqüinos.2007. 88f. Dissertação(doutorado em ciência animal). Universidade Federal Rural – Recife