

Talita Soares Câmara

Arg. Bras. Med. Vet. Zootec., v.71, n.4, p.1260-1268, 2019

# Comparação da qualidade seminal de caprinos das raças Canindé e https://orcid.org/0000-0003-1189-0937 Alpina Britânica no Nordeste brasileiro Cristiane Caprinos de Mello Salgueiro https://orcid.org/0000.0003-0071-4030

[Comparison of the seminal quality of Canindé and British Alpine goats in the Brazilian Northeast]

T.S. Câmara<sup>1</sup>, A. Sousa Júnior<sup>2</sup>, F.P.S. Barçante<sup>3</sup>, J.H.L. Silva<sup>3</sup>, M.S. Sousa<sup>1</sup>, A.A.C. Machado<sup>4</sup>, C.C.M. Salgueiro<sup>5</sup>, A.R. Montenegro<sup>6</sup>, J.F. Nunes<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Aluno de Pós-graduação - Universidade Estadual do Ceará - Fortaleza, CE

<sup>2</sup>Colégio Técnico de Teresina - Teresina, PI

<sup>3</sup>Aluno de Pós-graduação - Universidade Federal do Piauí - Teresina, PI

<sup>4</sup>Universidade Estadual do Ceará - Fortaleza, CE

<sup>5</sup>ACP Biotecnologia; Universidade Estadual do Ceará, RENORBIO, MPBiotec - Fortaleza, CE

<sup>6</sup>Universidade Estadual do Ceará - Fortaleza, CE

<sup>7</sup>Universidade Estadual do Ceará, ENORBIO, MPBiotec - Fortaleza, CE

https://orcid.org/0000-0002-2091-3275
Jose Ferreira Nunes
https://orcid.org/0000-0003-1189-0937
Cristiane Clemente de Mello Salgueiro
https://orcid.org/0000-0003-0071-4030
Antonio Sousa Júnior
https://orcid.org/0000-0002-3651-8093
Assis Rubens Montenegro
https://orcid.org/0000-0001-9304-3461
Marcimar Silva Sousa
https://orcid.org/0000-0002-1543-0041
Alex Altair Costa Machado
https://orcid.org/0000-0002-0621-1154
Felipe Pereira da Silva Barcante
https://orcid.org/0000-0002-9044-4646
Jefferson Halisson Lustosa da Silva
https://orcid.org/0000-0003-3573-0508

#### **RESUMO**

O estudo objetivou avaliar a qualidade seminal de caprinos das raças Canindé (autóctone) e Alpina Britânica (exótica) no Nordeste brasileiro. O experimento foi realizado nos períodos de julho a setembro dos anos de 2015 e 2016. As coletas seminais foram realizadas com auxílio de vagina artificial, de machos das racas Canindé (n = 4) e Alpina Britânica (n = 7). Após a coleta, o sêmen foi avaliado quanto a: volume (ml), concentração (sptz/ml), motilidade (%) e vigor (1-5). Em seguida, diluído em ACP-101c e criopreservado em máquina TK3000<sup>TM</sup>. Posteriormente, foram analisados os parâmetros cinéticos, através do software SCA<sup>®</sup>, e a atividade mitocondrial. No sêmen fresco, as duas raças apresentaram valores de motilidade e concentração dentro do preconizado para a espécie. Entretanto, os valores de volume e circunferência escrotal foram superiores na raça Alpina Britânica (0,73 ml ± 0,32; 27,35 cm ± 2,09) do que na raça Canindé (0,36 ml  $\pm$  0,07; 23,25 cm  $\pm$  0,95) (p < 0,05). Já no sêmen descongelado, os parâmetros motilidade total - MT (36,96% ± 11,16 vs. 20,50% ± 14,15), motilidade progressiva - MP  $(26,67\% \pm 11,13 \text{ vs. } 11,29\% \pm 9,42)$ , vigor  $(2,91 \pm 0,90 \text{ vs. } 1,88 \pm 0,67)$ , velocidade curvilinear - VCL  $(78,12 \mu \text{m/s} \pm 12,41 \text{ vs.} 59,28 \mu \text{m/s} \pm 15,57)$ , velocidade linear - VSL  $(49,23 \mu \text{m/s} \pm 9,87 \text{ vs.} 29,9 \mu \text{m/s} \pm 12,41 \text{ vs.} 59,28 \mu \text$ 9,48), velocidade média da trajetória - VAP (66,08 μm/s ± 12,77 vs. 45,70 μm/s ± 12,20), linearidade -LIN (62,97%  $\pm$  6,96 vs. 49,54% $\pm$ 9,50), retilinearidade - STR (74,63%  $\pm$  6,44 vs. 65,77%  $\pm$  8,92), e oscilação - WOB (84,32% ± 5,94 vs. 74,42% ± 7,31) foram superiores para a raça Canindé em detrimento à Alpina Britânica (p < 0,05). Portanto, o sêmen fresco das duas raças podem ser utilizados em biotécnicas reprodutivas. Já o sêmen pós-descongelação da raça Canindé apresentou melhor qualidade, provavelmente pelos animais estarem mais adaptados às condições adversas da região Nordeste, sendo recomendado para programas de inseminação artificial.

Palavras-chave: caprinos, raça autóctone, sêmen, análise computadorizada, atividade mitocondrial

## **ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate the sperm quality of Canindé (native) and British Alpine (exotic) goats in the Northeast of Brazil. The experiment was carried out from July to September of the years 2015 and 2016. Sperm collections of Canindé (n=4) and British Alpine (n=7) males were performed using artificial vagina. After collection, the sperm was evaluated for volume (m), concentration (sptz/m), motility (%), and vigor (1-5). Then diluted in ACP-101c and cryopreserved in TK3000TM machine. Subsequently, kinetic parameters were analyzed through  $SCA^{TM}$  software and

Recebido em 22 de setembro de 2017 Aceito em 23 de maio de 2018 E-mail: talitavet2003@gmail.com mitochondrial activity. In fresh sperm, the two races presented values of motility and concentration within the recommended for the specie. However, volume and scrotal circumference values were higher in the British Alpine breed (0.73 mL  $\pm$  0.32; 27.35 cm  $\pm$  2.09) than in the Canindé breed (0.36 mL  $\pm$  0.07; 23 , 25 cm  $\pm$  0.95) (p <0.05). In the thawed sperm, the parameters total motility - TM (36.96%  $\pm$  11.16 vs. 20.50%  $\pm$  14.15), progressive motility - PM (26.67%  $\pm$  11.13 vs. 11.29 %  $\pm$  9.42), vigor (2.91  $\pm$  0.90 vs. 1.88  $\pm$  0.67), curvilinear velocity - VCL (78.12  $\mu$ m/s  $\pm$  12.41 vs. 59.28  $\mu$ m/s  $\pm$  15.57), linear velocity - VSL (49.23  $\mu$ m/s  $\pm$  9.87 vs. 29.9  $\mu$ m/s  $\pm$  9.48), mean velocity of the trajectory - VAP (66.08  $\mu$ m/s  $\pm$  12.77 vs. 45.70  $\mu$ m/s  $\pm$  12.20), linearity - LIN (62.97%  $\pm$  6.96 vs. 49.54%  $\pm$  9.50), rectilinearity - STR (74.63%  $\pm$  6.44 vs. 65.77%  $\pm$  8.92), and oscillation -WOB (84.32%  $\pm$  5.94 vs. 74.42%  $\pm$  7.31) were higher for Canindé breed than for British Alpine (p < 0.05). Therefore, fresh sperm from both breeds can be used in reproductive biotechniques. On the other hand, the post-thawed sperm of the Canindé breed showed better quality, probably because the animals were more adapted to the adverse conditions of the Northeast region and are recommended for artificial insemination programs.

Keywords: goats, autochthonous breed, sperm, computerized analysis, mitochondrial activity

## INTRODUÇÃO

A população mundial de caprinos é de aproximadamente 1,06 bilhão de cabeças, tendo China, Índia, Nigéria, Paquistão e Bangladesh como maiores produtores (51,2% do rebanho) (FAOSTAT, 2016). O Brasil detém o 22º lugar com aproximadamente 8,8 milhões de caprinos, concentrados na região Nordeste (92,7%). O Estado do Ceará detém o 4º maior rebanho nacional (11,6%), atrás apenas do Piauí (12,8%), Pernambuco (25,3%) e Bahia (27,4%) (Produção..., 2015). Esse cenário retrata a importância da caprinocultura para desenvolvimento social da região, sendo economicamente rentável, sobretudo pequenos produtores que comercializam carne, leite e pele.

Os caprinos da região Nordeste são grupamentos genéticos descendentes de animais trazidos para o Brasil na época da colonização. Esses animais foram submetidos a longos períodos de seleção natural e adaptação, principalmente ao semiárido brasileiro (Oliveira *et al.*, 2006; McManus *et al.*, 2010). Já as raças especializadas de alto desempenho produtivo, não expressaram todo o seu potencial genético, sendo pouco adaptadas ao clima da região (Brito *et al.*, 2008).

As principais raças e ecotipos de caprinos localmente adaptados presentes no Nordeste do Brasil são: Moxotó, Canindé, Marota, Repartida, Gurgueia, Azul e Nambi (Egito *et al.*, 2002). Dentre estas, a raça Canindé se destaca por sua rusticidade e alta produção de leite; encontrandose acima da média nacional, quando comparada a caprinos localmente adaptados (Ribeiro *et al.*,

2006). Atualmente, esses animais se encontram em risco de desaparecimento em consequência do cruzamento desordenado com raças introduzidas mais recentemente, por estas serem mais produtivas (Rocha *et al.*, 2016).

Por essa razão, maiores estudos sobre as características reprodutivas das raças localmente adaptadas são de fundamental importância para a conservação e preservação dos mesmos. Nesse contexto, a criopreservação seminal pode ser utilizada para a formação de um banco de germoplasma, visando a conservação e multiplicação do material genético de animais geneticamente superiores e/ou em risco de extinção; com isso, possibilitando o uso do sêmen por períodos prolongados e favorecendo a redução de custos com a aquisição e o transporte de reprodutores.

A biotécnica de criopreservação seminal possibilitará o uso futuro desses recursos genéticos em programas de melhoramento animal. Para tanto, as características seminais desse tipo racial devem ser estudadas para viabilizar a preservação do seu germoplasma.

Em decorrência disso, este estudo teve como objetivo avaliar quanti-qualitativamente o sêmen fresco e descongelado de caprinos das raças Canindé (autóctone) e Alpina Britânica (exótica) no Nordeste do Brasil.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (Nº 6305558/2014).

Foram utilizados 11 machos (Canindé = 04 e Alpina Britânica = 07), com idade de 2-4 anos, peso de 45-65 kg, boa saúde e fertilidade comprovada. Os animais eram oriundos de fazendas localizadas nos Estados do Piauí (latitude 06°12'07''S, longitude 42°08'25''W, com clima tropical com estação seca) e Ceará (latitude 04°58'17"S, longitude 39°00'55''W, 27°C, com clima tropical). Um mês antes do início do experimento propriamente dito (mês de julho), procedeu-se à seleção dos animais, à mensuração da circunferência escrotal (CE) e ao condicionamento destes ao uso da vagina artificial (duas vezes por semana durante o mês).

Os animais eram alimentados com concentrado contendo 22% de proteína bruta [3/4 de farelo de milho + 1/4 de farelo de soja] e forragem verde, com 70% de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum). A mineralização foi incorporada à ração, e água foi fornecida *ad libitum*. O experimento foi conduzido nos meses de julho a setembro de 2015 e repetido o mesmo desenho experimental nos mesmos meses no ano de 2016.

O sêmen foi coletado com o auxílio de vagina artificial (43 °C) e da presença de uma fêmea em estro induzido (cipionato de estradiol - ECP, 2 ml, intramuscular). Foram realizadas 10 coletas de cada animal das raças Canindé (n = 04) e Alpina Britânica (n = 07), totalizando 40 e 28 ejaculados, respectivamente.

Imediatamente após a coleta, OS ejaculados foram mantidos em banho Maria °C. Inicialmente foram analisados macroscopicamente pela cor, aspecto e volume (ml). Uma gota de sêmen puro foi disposta em lâmina e avaliada microscopicamente (100x) quanto à motilidade massal (MM; 0 a 5). A concentração do sêmen foi determinada em câmara de Neubauer, onde uma alíquota de 10 µl de sêmen fresco foi diluída em solução contendo 4 ml de formol salina (1:400). Uma alíquota do sêmen foi diluída (1:40) e os espermatozoides (sptz) analisados microscopicamente quanto a motilidade total (MT; %) e motilidade progressiva (MP; %) (Chemineau et al., 1991).

Após as análises, o sêmen foi diluído em meio à base de água de coco em pó (ACP-101c; 300 mOsm/L; pH 6,8, ACP Biotecnologia, Fortaleza-CE, Brasil) acrescido de 2,5% de gema de ovo, 40 mg de antibiótico (gentamicina) e 7% de crioprotetor (glicerol), até atingir uma concentração de 400 x 10<sup>6</sup> sptz/ml. Em seguida, envasado em palhetas de 0,25 ml (100 x 10<sup>6</sup> sptz) que foram alocadas em máquina de congelação TK 3000<sup>®</sup> (TK Tecnologia em Congelação Ltda., Uberaba-MG, Brasil) e submetidas à curva específica para sêmen caprino (-0,25 °C/min., de 25 a 4 °C; tempo de equilíbrio de 60 min.; e -10 °C/min., de 4 a -120 °C). Logo após, as palhetas foram mergulhadas em nitrogênio líquido (-196 °C) e armazenadas em botijão criogênico.

Um mês após a última coleta do experimento, as palhetas foram descongeladas em banho Maria (37 °C por 30 segundos) e analisadas quanto aos parâmetros cinéticos (Sistema Computer-Assited Sperm Analyses - CASA, utilizando-se o *software* Sperm Class Analyser®- SCA), viabilidade (eosina-nigrosina) e atividade mitocondrial (3,3'-diaminobenzidina-DAB).

Uma alíquota de 10 µl da amostra foi colocada em câmera de Makler pré-aquecida e três campos aleatórios e consecutivos foram analisados subjetivamente quanto à MT, à MP e ao vigor (VIG; 0-5). A mesma amostra foi analisada objetivamente pelo software SCA®, no módulo caprino (tamanho da cabeça entre 10 e 70 µm, lentos entre 10 e 45 µm/s, médios entre 45 e 75  $\mu$ m/s, rápidos > 75  $\mu$ m/s, progressivos > 80%, circulares > 50%, e conectividade 12). Foram então analisados: motilidade progressiva (Prog; %), velocidade curvilinear (VCL; µm/s), velocidade linear (VSL; µm/s), velocidade média da trajetória (VAP; µm/s), linearidade (LIN; %), retilinearidade (STR; %), oscilação (WOB; %), amplitude de deslocamento lateral da cabeca (ALH; µm), e frequência de batimento cruzado do flagelo (BCF; Hz).

Para avaliação da integridade da membrana espermática, o sêmen foi corado com eosinanigrosina (eosina 1 g, nigrosina 2 g, citrato de sódio 3,57 g, e água destilada q.s.p. 100 ml) e uma gota foi utilizada para a confecção do esfregaço em lâmina de vidro. Foram então avaliados 200 sptz/lâmina em microscopia (400x), sendo considerados viáveis aqueles nãocorados, com a membrana íntegra.

Já a análise da atividade mitocondrial foi realizada utilizando-se 3,3'-diaminobenzidina (DAB), diluída em PBS na concentração de 1 mg/ml e congelada. No dia do teste, a DAB foi descongelada em banho Maria a 37 °C, protegida da luz. Na sequência, uma alíquota de 20 µl de sêmen descongelado foi incubada com 50 µl de DAB a 37 °C por 40 min. Após incubação, foram confeccionados esfregaços em lâminas de vidro pré-aquecidas, fixadas em formol 10% por 10 min., secas ao ar e lavadas com água destilada. Para a análise, 200 sptz/lâmina foram observados em microscópio de contraste de fase (400x) e classificados, de acordo com o grau de coloração da peça intermediária, em quatro classes: DAB I - sptz com peça intermediária totalmente corada, indicando alta atividade mitocondrial; DAB II: sptz com mais da metade dos segmentos corados (ativos), indicando atividade mitocondrial média a alta; DAB III - sptz com menos da metade dos segmentos corados (ativos), indicando alto comprometimento da atividade mitocondrial; DAB IV - sptz com peça intermediária totalmente descorada, indicando ausência de atividade mitocondrial.

Para análise estatística, as variáveis foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e ao teste de homogeneidade de Bartlett. As observações discrepantes (outlier), possibilidade biológica de ocorrência, foram retiradas. Em seguida, as variáveis que não atenderam aos pressupostos para uma análise paramétrica foram transformadas. Utilizou-se o procedimento MIXED do SAS para estimar as (co) variâncias, por meio do modelo misto: y =  $X\beta + Zu + e$ , em que: "y" são as variáveis estudadas; "X" "Z", matrizes e endereçamento dos efeitos fixos (raças: Canindé e Alpina Britânica; tratamentos: fresco e descongelado) e aleatórios respectivamente; "β" e "u", vetores soluções para os efeitos fixos e aleatórios, respectivamente; e "e", erro aleatório associado a cada observação. Foi utilizado o teste de Tukey para os desdobramentos de interação com mais de duas médias e o teste F para comparações entre duas médias. Foram estimados coeficientes de correlação de Pearson para verificar a associação linear entre as variáveis. Para atividade mitocondrial, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. Os resultados foram considerados significativos quando p < 0.05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A CE dos animais das raças Canindé e Alpina Britânica, além do volume, MM e concentração espermática do sêmen fresco, estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Avaliação da circunferência escrotal (CE), motilidade massal (MM), volume (VOL) e concentração espermática [sptz] de bodes das raças Canindé e Alpina Britânica, no Nordeste brasileiro

Parâmetro	Canindé	Alpina Britânica
CE (cm)	$23,25 \pm 0,95^{b}$	$27,35 \pm 2,09^{a}$
VOL (ml)	$0,36 \pm 0,07^{b}$	$0.73 \pm 0.32^{a}$
MM (0-5)	$3,82 \pm 0,08$	$3,95 \pm 0,81$
$[sptz] (10^9/ml)$	$4,09 \pm 0,41$	$3,55 \pm 0,77$

<sup>a,b</sup> Letras diferem na mesma linha (p < 0.05).

No que se refere ao VOL, a raça Canindé (0,36 ml) apresentou valores abaixo dos observados em outros trabalhos com raças autóctones (Azevedo *et al.*, 2004; Batista, 2008; Batista *et al.*, 2014; Carvalho, 2017; Silva, 2017), e também abaixo do preconizado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA para a espécie (Henry e Neves, 2013); além de inferior ao da raça Alpina Britânica (0,73 ml) (p < 0,05).

Entretanto, os valores de [sptz] estiveram dentro do preconizado para caprinos, sem diferença entre as raças (p > 0,05), embora apresentassem valores menores do que observado por Batista *et al.* (2014), ao avaliarem caprinos nativos na Espanha; e maiores que os avaliados por Silva (2017) e Azevedo *et al.* (2004) em caprinos de raças autóctones do Nordeste brasileiro.

Esses resultados são condizentes com a coleta de sêmen com auxílio de vagina artificial, onde são obtidos menores volumes e, consequentemente, uma maior concentração espermática. Vale ressaltar que outros fatores podem influenciar o volume e a concentração espermática, como fotoperíodo, temperatura, clima, alimentação, frequência de coletas, idade do animal, além da própria variação individual.

No que se refere à MM, os valores encontrados no presente estudo estavam dentro do preconizado para a espécie caprina (Henry e Neves, 2013), independentemente da raça.

As características seminais e a biometria testicular apresentam grande variação entre as raças e até mesmo entre indivíduos, afetando o desempenho desses animais. No presente estudo, foi observada uma correlação positiva (r > 0,82) entre o VOL e a CE. Embora a CE apresentou-se abaixo do recomendado para a espécie por Nunes (2001), quer sejam: Canindé = 23,25 cm, e Alpina Britânica = 27,35 cm. Esse fato pode ser explicado por uma menor produção de testosterona nas raças autóctones, que gera testículos menores e, consequentemente, menor CE e VOL. Devido à alta correlação entre esses parâmetros, os mesmos são confiáveis e bastante utilizados para a seleção de reprodutores (Câmara et al., 2016). Correlação moderada e positiva (r>0,40) entre VOL e CE foi observada em caprinos da raça Anglo Nubiana criados em regime semi-intensivo no Estado da Bahia (Sousa, 2010). Os valores de CE do presente estudo foram similares àqueles obtidos por Sousa *et al.* (2017) (raça Anglo Nubiana = 24,94 cm) e Silva (2017) (raças Moxotó e Azul = 24,9 cm), ambos no Nordeste brasileiro.

Os valores de VIG e MT no sêmen fresco, tanto na raça Canindé (3,4; 83,42%) como na Alpina Britânica (3,51; 84,81%) estavam de acordo com o preconizado pelo CBRA (Henry e Neves, 2013), sem diferença entre essas raças (p > 0,05). Já no sêmen descongelado, a raça Canindé apresentou melhores resultados que a Alpina Britânica quanto aos parâmetros MT, MP e VIG, estando dentro do preconizado para caprinos (Henry e Neves, 2013). A viabilidade, no entanto, não diferiu estatisticamente entre as raças nem entre sêmen fresco e/ou descongelado (Tab. 2).

Tabela 2. Comparação da análise subjetiva referente à interação dos parâmetros de motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), vigor e viabilidade do sêmen de caprinos das raças Canindé e Alpina Britânica, no Nordeste brasileiro

Parâmetros	Raças	Sêmen Fresco	Sêmen Descongelado
MT (%)	CN	$83,42\pm8,46^{Aa}$	36,96±11,16 Ab
	AB	84,81±7,26 Aa	20,50±14,15 Bb
MP (%)	CN	74,28±7,3 <sup>Aa</sup>	26,67±11,13 Ab
	AB	79,44±6,7 <sup>Aa</sup>	11,29±9,42 Bb
VIG (1-5)	CN	3,40±0,5 Aa	2,91±0,9 Aa
	AB	3,51±0,5 Aa	1,875±0,67 Bb
VIAB (%)	CN	0,802±0,1 Aa	0,432±0,12 Ab
	AB	0,744±0,21 Aa	$0,474\pm0,15$ Ab

Letras maiúsculas diferentes entre colunas (p < 0,05). Letras minúsculas diferem entre linha dentro de cada parâmetro (p < 0,05). CN = raça Canindé, AB = raça Alpina Britânica, MT = motilidade total, MP = motilidade progressiva, VIG = vigor, VIAB = viabilidade.

A motilidade espermática é uma das principais características que deve ser considerada no exame seminal; dessa forma, valores adequados para os parâmetros analisados são relevantes na escolha de reprodutores, pois influenciam diretamente os índices reprodutivos.

Dias *et al.* (2015), ao avaliarem a MT (32,8%  $\pm$  1,4) e o VIG (3,2  $\pm$  0,1) no sêmen descongelado de caprinos da raça Parda Alpina, utilizando TRIS como diluente, obtiveram valores menores para MT (36,96%  $\pm$  11,16) e maiores para VIG (2,91  $\pm$  0,9), quando comparados aos da raça Canindé do presente estudo; entretanto, com valores maiores de MT (20,5%  $\pm$  14,16) e VIG (1,87  $\pm$  0,67) aos obtidos na raça Alpina Britânica.

Já Bispo *et al.* (2011), ao avaliarem as características *in vitro* e a fertilidade do sêmen fresco de caprinos (raça Saanen e Alpina), obtiveram valores para MT (87,9-79,1%) e VIG (3,9-4,7) maiores do que os obtidos no presente estudo para as raças Canindé (83,42%  $\pm$  8,46 e 3,4  $\pm$  0,50) e Alpina Britânica (84,81%  $\pm$  7,26 e 3,51  $\pm$  0,50). Da mesma forma, Batista (2008), ao analisar sêmen de caprinos da raça Moxotó, diluído em água de coco em pó (ACP-101), na Paraíba, obteve 80% de MP.

Carvalho (2017), ao avaliar sêmen de caprinos da raça Serpentina, em Portugal, obteve 66,25% de MP para o sêmen fresco e 26,25% para sêmen descongelado; valores abaixo dos que foram obtidos para Canindé no sêmen fresco e no descongelado (74,28% e 26,6%) e acima do

obtido para Alpina Britânica no sêmen descongelado (11,29%). Valores maiores de MP na pós-descongelação também foram obtidos por Santos (2001) ao avaliar características reprodutivas em caprinos das raças Parda Alpina e Saanen (31,9% e 26,9%).

No que se refere aos parâmetros analisados pelo *software* SCA<sup>®</sup>, no sêmen descongelado para as duas raças em estudo, pode-se observar que a raça Canindé apresentou resultados superiores (p < 0,05) para os parâmetros: espermatozoides progressivos - *Prog*, VCL, VSL, VAP, LIN, STR e WOB, quando comparada à Alpina Britânica. Entretanto, para ALH e BCF, não foram observadas diferenças entre as raças (p > 0,05; Tab. 3).

Tabela 3. Parâmetros cinéticos do sêmen descongelado, avaliados pelo sistema de análise computadorizada SCA<sup>®</sup>, das raças Canindé e Alpina Britânica, no Nordeste brasileiro

Alphia Bittainea, no Nordeste brasileno				
Variáveis	Canindé	Alpina Britânica		
Prog (%)	$22,15\pm10,53^{a}$	6,52±5,94 <sup>b</sup>		
VCL (µm/s)	78,12±12,41a	$59,28\pm15,57^{b}$		
VSL (µm/s)	49,23±9,87 <sup>a</sup>	$29,9\pm9,48^{b}$		
VAP (µm/s)	$66,08\pm12,77^{a}$	$45,70\pm12,20^{b}$		
LIN (%)	$62,97\pm6,96^{a}$	$49,54\pm9,50^{b}$		
STR (%)	$74,63\pm6,44^{a}$	$65,77\pm8,92^{b}$		
WOB (%)	$84,32\pm5,94^{a}$	$74,42\pm7,31^{b}$		
ALH (µm)	$2,49\pm0,46$	$2,72\pm0,64$		
BCF (Hz)	$8,07\pm1,05$	$8,11\pm1,53$		

Letras minúsculas diferentes entre colunas (p < 0,05). Prog (motilidade progressiva), VCL (velocidade curvilinear), VSL (velocidade linear), VAP (velocidade média da trajetória), LIN (linearidade), STR (retilinearidade), WOB (oscilação), ALH (amplitude de deslocamento lateral da cabeça) e BCF (frequência de batimento cruzado do flagelo).

Santiago *et al.* (2017), ao utilizarem análise computadorizada no sêmen descongelado de caprinos da raça Malagueña na Espanha, obtiveram valores menores para VCL (69,6 μm/s ± 8,4), VSL (42,9 μm/s ± 8,1), VAP (51,6 μm/s ± 8,8), LIN (57,8% ± 4,9), WOB (70,8% ± 4,4) que a raça Canindé; entretanto, maiores para os parâmetros STR (80,8% ± 2,5) e BCF (9,2 Hz ± 0,5). Jimenez-Rabadan *et al.* (2016), ao avaliarem o sêmen pós-descongelação de caprinos da raça Blanca-Celtibérica, obtiveram valores maiores para VSL (58%) e ALH (2,6 μm), e menores para LIN (55%), quando

comparados aos obtidos pelos animais do presente estudo.

Silva (2017), ao avaliar sêmen pós-descongelado de outras raças caprinas nativas, obteve valores (Prog=10.9%; VCL = 68,7  $\mu$ m/s; VSL = 33,9  $\mu$ m/s; e LIN = 46,6%) menores que os da raça Canindé do presente estudo (p < 0,05); entretanto, foram maiores que os valores observados na raça Alpina Britânica (Prog=6.52%; VCL = 59,28  $\mu$ m/s; LIN = 29,9%).

Segundo Verstegen *et al.* (2002), parâmetros de LIN e BCF elevados são melhores para migração e penetração no muco cervical pelo espermatozoide. No que se refere à LIN, a raça Canindé (62,97%) apresentou valor superior ao da Alpina Britânica (49,54%) (p < 0,05). Já para a BCF, não houve diferença entre as raças (p > 0,05).

Cox *et al.* (2006), ao analisarem esses parâmetros cinéticos em caprinos, determinaram que a LIN (resultado da razão entre VSL e VCL) tem que ser maior que 50%, e o ALH em torno de 4,8  $\mu$ m. Levando-se esses dados em consideração, as duas raças apresentaram valores de ALH abaixo do considerado ideal (CN = 2,49  $\mu$ m; AB = 2,72  $\mu$ m). Ainda segundo esses autores, parâmetros de VCL e ALH têm correlação positiva com a fertilização, e valores de ALH e LIN são indicadores da hiperativação do espermatozoide.

Os valores referentes à análise da atividade mitocondrial das raças Canindé e Alpina Britânica estão relatados na tabela 4.

Através respiração mitocondrial, da espermatozoides caprinos mantêm um balanço energético necessário para o transporte e as demais funções celulares. Um aumento no comprimento da peça intermediária poderia estar associado a uma maior taxa de fosforilação oxidativa. acarretando maior atividade metabólica, o que influencia consequente e diretamente a motilidade espermática, já que as mitocôndrias são transformadoras de energia (Eddy, 1988). Dessa forma, a menor atividade mitocondrial pode ser um fator de grande importância para explicar a diminuição da fertilidade e motilidade do sêmen criopreservado, visto que as mitocôndrias da peça intermediária

do espermatozoide produzem energia que promovem a motilidade.

Tabela 4. Atividade mitocondrial do sêmen descongelado de caprinos das raças Canindé e Alpina Britânica, no Nordeste brasileiro

Classes de Atividade mitocondrial	Raça Canindé	Raça Alpina Britânica
DAB I (%)	$12,75 \pm 9,3^{\mathrm{b}}$	$21,72 \pm 9,9^{a}$
DAB II (%)	$31,61 \pm 14,09$	$26,10 \pm 9,24$
DAB III (%)	$41,09 \pm 17,18$	$50,38 \pm 16,20$
DAB IV (%)	$6,00 \pm 9,26^{a}$	$0.16 \pm 0.45^{b}$

Letras minúsculas diferentes entre colunas (p < 0,05). DAB I = sptz com peça intermediária totalmente corada, indicando alta atividade mitocondrial; DAB II = sptz com mais da metade dos segmentos corados (ativos), indicando atividade mitocondrial média a alta; DAB III = sptz com menos da metade dos segmentos corados (ativos), indicando alto comprometimento da atividade mitocondrial; DAB IV = sptz com peça intermediária totalmente descorada, indicando ausência de atividade mitocondrial.

Após análise da atividade mitocondrial das duas raças do presente estudo, foi possível observar que os resultados estiveram dentro do recomendado, com alta atividade mitocondrial, podendo promover uma boa fertilidade e motilidade, como observado na raça Canindé. Apesar dos animais da raça Alpina Britânica terem apresentado resultados melhores para DAB I que os da raça Canindé (21,72%  $\pm$  9,9 e 12,75%  $\pm$  9,3, respectivamente; p < 0,05), e consequentemente menores para DAB IV (0,16%  $\pm$  0,45 e 6,00  $\pm$  9,26, respectivamente), não foram visualizadas melhoras na motilidade espermática, na pós-descongelação, para essa raça.

Cavalcante *et al.* (2005), ao avaliarem a atividade mitocondrial de caprinos das raças Boer e Parda Alpina no sêmen descongelado, obtiveram valores médios de atividade mitocondrial DAB I de 54,4% e 53,5%, respectivamente; valores abaixo do encontrado no presente estudo para as raças Canindé e Alpina Britânica. Da mesma forma, Silva (2017), utilizando sondas fluorescentes, observou valores maiores de atividade mitocondrial em sptz pósdescongelação das raças Azul (31,6%) e Moxotó (55,5%), que as raças do presente experimento.

Apesar do sêmen dos animais das duas raças aqui avaliadas terem sido processados do mesmo

modo, desde a coleta até a congelação, houve superioridade para a maioria dos parâmetros espermáticos analisados na raca Canindé (p < 0,05). Esse fato pode ser explicado pelo processo de seleção natural que os animais dessa raça sofreram ao longo de várias gerações desde sua introdução no Brasil, o que contribuiu para que os mesmos apresentassem alta capacidade de adaptação e sobrevivência nas condições adversas do Nordeste brasileiro; além de apresentarem alta prolificidade e resistência a doenças (McManus et al., 2010), o que reflete na melhor qualidade do sêmen dessa raça ao processo de criopreservação consequentemente, favorece a sua utilização nas biotecnologias da reprodução, como inseminação artificial, a fim de contribuir para o melhoramento genético da raça.

#### CONCLUSÃO

O sêmen fresco das raças Canindé e Alpina Britânica podem ser utilizados em biotécnicas reprodutivas. Já o sêmen pós-descongelação da raça Canindé apresentou melhor qualidade, provavelmente pelos animais estarem mais adaptados às condições adversas da região Nordeste, sendo recomendado para programas de inseminação artificial.

### **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal do Piauí (UFPI), ao Colégio Técnico de Teresina (CTT), à Fazenda Faveira, à empresa ACP Biotecnologia, à CAPES, CNPq e FUNCAP.

## REFERÊNCIA

AZEVEDO, D.M.M.R.; TONIOLLI, R.; NUNES, J.F.; VILLARROEL, A.B.S. Características seminais de caprinos Marota no Nordeste do Brasil. *Cient. Prod. Anim.*, v.6, p.33-39, 2004.

BATISTA, L.B. Avaliação de sêmen caprino diluído em água de coco em pó e mantido sob refrigeração. 2008. 36f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Campus Patos, PB.

BATISTA, M.; NIÑO, T.; SANTANA, M. *et al.* Post-thaw quality of buck semen samples cooled at 5 °C up to 2 days before cryopreservation. *Small Rum. Res.*, v.121, p.101-105, 2014.

- BISPO, C.A.S.; PUGLIESI, G.; PALHÃO, M.P. *et al.* Características in vitro e fertilidade do sêmen de caprino armazenado a 5 °C por 24 horas utilizando duas concentrações de gema de ovo no diluente. *Ciênc. Anim. Bras.*, v.12, p.54-58, 2011.
- BRITO, R.L.L.; FARIAS, J.L.S.; SANTOS, D.O. *et al.* Avaliação do comportamento reprodutivo de caprinos naturalizados como doadores de sêmen. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 5., 2008, Aracaju. *Anais...* Aracaju: Sociedade Nordestina de Produção Animal, 2008.
- CÂMARA, T.S.; CATUNDA, A.G.V.; NUNES, J.F. *et al.* Avaliação da capacidade reprodutiva de caprinos tratados com testosterona bioidêntica por via transdérmica. *Ciênc. Anim.*, v.26, p.3-15, 2016.
- CARVALHO, A.B.D.R.L. Criopreservação de sêmen como estratégia de conservação de raças autóctones ovinas e caprinas. 2017. 135f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Lusófana de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, PT.
- CAVALCANTE, T.V.; ESPER, C.R.; FERREIRA, J.L. *et al.* Avaliação da atividade mitocondrial em espermatozoides pós-colheita e pós-descongelação de caprinos das raças Boer e Alpina no outono e primavera. *Arch. Vet. Sci.*, v.10, p.89-93, 2005.
- CHEMINEAU, P.; COGNIE, Y.; GUERIN, Y. et al. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1991. 223p.
- COX, J.F.; ALFARO, V.; MONTENEGRO, V.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Computer-assisted analysis of sperm motion in goats and its relationship with sperm migration in cervical mucus. *Theriogenology*, v.66, p.860-867, 2006.
- DIAS, J.C.O.; SANTOS, M.C.R.; FILHO, J.M.P. *et al.* Características do sêmen caprino descongelado após a adição de ringer lactato, citrato de sódio e solução tris. *Ciênc. Anim. Bras.*, v.16, p.243-250, 2015.

- EDDY, E.M. The spermatozoa. In: KNOBIL, E.; NEIL, J.D. *Physiology of reproduction*. New York: Raven Press, 1988. p.27-68.
- EGITO, A.A.; MARIANTE, A.S.; ALBUQUERQUE, M.S.M. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. *Arch. Zootec.*, v.51, p.39-52, 2002.
- FAOSTAT Production Live Animals. Rome: FAO, 2016.
- HENRY, M.; NEVES, J.P. (Eds.). *Manual para Exame Andrológico e Avaliação do Sêmen Animal*. Belo Horizonte: CBRA, 2013. 49p.
- JIMENEZ-RABADANA, P.; SOLER, A.J.; RAMONA, M. *et al.* Influence of semen collection method on sperm cryoresistance in small ruminants. *Anim. Reprod. Sci.*, v.167, p.103-108, 2016.
- MCMANUS, C.; PAIVA, S.; LOUVANDINI, H. *Caprinos no Brasil*. [Brasília]: CNPQ/INCT, 2010. (Informação genético-sanitária da pecuária brasileira. Série técnica: Genética).
- NUNES, J.F. Produção e Reprodução de Caprinos e Ovinos. Fortaleza: LCR, 2001. 160p.
- OLIVEIRA, E.J.; PÁDUA, J.G.; ZUCCHI, M.I. *et al.* C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genet. Mol. Biol.*, v.29, p.294-307, 2006.
- PRODUÇÃO da Pecuária Mundial. Rio de janeiro: IBGE, 2015. v.43, p.1-49.
- RIBEIRO, V.L.; BATISTA, A.M.V.; CARVALHO, F.F.R. *et al.* Comportamento digestivo de caprinos Moxotó e Canindé submetidos à alimentação à vontade e restrita. *Acta Sci. Anim. Sci.*, v.28, p.331-337, 2006.
- ROCHA, L.L.; PIMENTA FILHO, E.C.; GOMES FILHO, M.A. *et al.* Impact of foreign goat breeds on the genetic structure of Brazilian indigenous goats and consequences to intrabreed genetic diversity. *Small Rum. Res.*, v.134, p.28-33, 2016.
- SANTIAGO-MORENO, J.; ESTESO, M.C.; CASTAÑO, C. *et al.* Seminal plasma removal by density-gradient centrifugation is superior for goat sperm preservation compared with classical sperm washing. *Anim. Reprod. Sci.*, v.181, p.141-150, 2017.

#### Câmara et al.

SANTOS, A.D.F. Características reprodutivas e congelamento de sêmen de reprodutores das raças Alpina e Saanen submetidos ao manejo de fotoperíodo. 2001. 78f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, MG.

SILVA, J.L. Efeito da época do ano sobre as características do sêmen criopreservado de caprinos Azul, Canindé e Moxotó nas estações seca e chuvosa. 2017. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI.

SOUSA, F.C. Desenvolvimento folicular em resposta a diferentes tratamentos de estimulação ovariana em cabras Canindé avaliadas por ultrassonografia. 2010. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE.

SOUSA, I.R.; MASCENO, V.M.; SILVA, J.F.; SOUSA, F.C. Características andrológicas de caprinos Anglonubianos submetidos ao semiárido. *Pubvet*, v.11, p.532-537, 2017.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology*, v.57, p.149-179, 2002.