



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS SEMINAIS
DOS GARANHÕES SELA-FRANCÊS
E CONGELABILIDADE DO SEU ESPERMA**

Eng.^a de Produção Animal

Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Gabriel Matias Gil



CASTELO BRANCO

1997

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	III
RESUMO.....	IV
ABSTRACT.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ÍNDICE DE QUADROS.....	VIII
ÍNDICE GERAL.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XV
LISTA DE ANEXOS.....	XVII
I - INTRODUÇÃO.....	1
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
1 – INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (IA).....	3
1.1 - VANTAGENS E INCOVENIENTES DA I.A.	3
1.1.1 - VANTAGENS.....	3
1.1.2 - DESVANTAGENS.....	4
1.2 - IMPORTÂNCIA E EVOLUÇÃO DA IA NA FRANÇA.....	5
1.2.1 – EVOLUÇÃO DA IA NA FRANÇA ATÉ 1985	5
1.2.2 - EVOLUÇÃO DA IA EQUINA NAS COUDELARIAS NACIONAIS DE FRANÇA (1985 – 1996).....	6
1.3 - IA COM ESPERMA CONGELADO.....	7
1.3.1 - ORGANIZAÇÃO.....	7
1.3.2 - RESULTADOS REPRODUTIVOS OBTIDOS EM IAC.....	8
1.4 - CRIAÇÃO E MERCADO INTERNACIONAL DO ESPERMA EQUINO.....	9
1.4.1 - CRIAÇÃO EUROPEIA.....	9
1.4.2 - DESENVOLVIMENTO DAS TÉCNICAS DE IA NA EUROPA.....	10
1.4.3 - CRIAÇÃO FRANCESA.....	11
1.4.4 - TROCAS DE ESPERMA DE GARANHÃO PELA FRANÇA	11

1.4.4.1 - Exportações	11
1.4.4.2 - Importações	12
1.4.5 - VANTAGENS E DESVANTAGENS DA EXPORTAÇÃO DE ESPERMA.....	12
2 - O GARANHÃO.....	13
2.1 - EXAME CLÍNICO DO GARANHÃO.....	13
2.1.1 – ANAMNESE.....	13
2.1.2 – EXAME INDIVIDUAL.....	13
2.1.2.1 - Exame geral.....	13
2.1.2.2 – Exame dos órgãos genitais.....	14
2.1.2.3 - Escroto e testículos.....	14
2.1.2.4 – Pênis e prepúcio.....	15
2.1.2.5 - Avaliação do libido.....	16
2.1.2.6 – Exame do esperma.....	16
2.2 - REVISÃO DE ALGUNS ASPECTOS FISIOLÓGICOS.....	16
2.2.1 - MATURIDADE SEXUAL.....	16
2.2.2 - ESPERMATOGÊNESE.....	17
2.2.3 - O ESPERMATOZÓIDE (SPZ).....	18
2.3 - TESTAGEM E AVALIAÇÃO DO ESPERMA E GARANHÕES.....	20
2.3.1 - ESPERMIOGRAMA.....	20
2.3.1.1 – Características para as quais a relação com as taxas de fertilidade é incerta.....	20
2.3.1.2 – Características para as quais não está estabelecido nenhum tipo de relação com as taxas de fertilidade.....	21
2.3.1.3 – Características que têm uma relação directa sobre as taxas de fertilidade.....	21
2.3.2 - AVALIAÇÃO DO PODER FECUNDANTE DO ESPERMA.....	25
2.3.2.1 - Calculo da fertilidade à "posteriori".....	25
2.3.2.2 - Predição da fertilidade com base no espermiograma.....	26
2.3.3 – CLASSIFICAÇÃO DOS GARANHÕES CANDIDATOS À IAC.....	27
2.4 – PERFORMANCES REPRODUTIVAS DA RAÇA.....	28
3 – SPZ EQUINO DURANTE A CONGELAÇÃO.....	29
3.1 - PRINCÍPIOS A RESPEITAR PARA A SUA CONGELAÇÃO.....	29
3.2 - ARREFECIMENTO E "COLD-SHOCK" OU CHOQUE PELO FRIO (+20° C A +1° C).....	31
3.3 – O SPZ DURANTE A CONGELAÇÃO (0° C a -196° C) E DESCONGELAÇÃO (- 196° C a + 37° C).....	32
3.4 – ITENS INTERVENIENTES NA CONGELAÇÃO DE UM SPZ.....	35
3.4.1 - DILUIDORES DE ESPERMA.....	35
3.4.2 - GLICEROL.....	37
3.4.3 - CENTRIFUGAÇÃO.....	38

3.4.4 - TAXAS DE CONGELAÇÃO E DESCONGELAÇÃO	39
3.4.5 - SISTEMAS DE ARMAZENAMENTO	41
4 - ALGUNS ITENS QUE INFLUENCIAM A QUALIDADE DE UMA DOSE DE IAC	44
4.1 - QUALIDADE DO EJACULADO: SOBREVIVÊNCIA DOS SPZ	44
4.2 - NÚMERO DE SPZ POR DOSE DE INSEMINAÇÃO.....	45
4.3 - ÉPOCA DE RECOLHA DO ESPERMA.....	47
4.4 - FACTOR ANIMAL (GARANHÃO)	48
5 - TÉCNICAS DE CONSERVAÇÃO DO ESPERMA.....	51
5.1 - MÉTODO DE CONGELAÇÃO EM PASTILHAS "PELLETS".....	51
5.2 - MÉTODO ALEMÃO (PALHAS de 4 ml).....	51
5.3 - MÉTODO AMERICANO (PALHINHAS de 0,5 ml).....	52
5.4 - MÉTODO DOS PAÍSES DE LESTE (TUBOS DE ALUMÍNIO)	53
5.5 - MÉTODO FRANCÊS (PALHINHAS DE 0,5 ml)	54
III - MATERIAL E METODOS	55
1 - LOCAL ONDE SE REALIZOU O ESTÁGIO	55
1.1 - ÁREA E LOCALIZAÇÃO.....	55
1.2 - CARACTERIZAÇÃO GERAL DA EXPLORAÇÃO.....	55
1.2.1 - SECTOR PECUÁRIO	55
1.2.2 - INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS PECUÁRIOS	56
1.2.3 - INSTALAÇÕES DO PESSOAL.....	56
1.2.4 - OUTRAS INSTALAÇÕES.....	56
1.3 - CARACTERIZAÇÃO DO EFECTIVO	57
1.3.1 - MANEIO ALIMENTAR.....	57
1.3.2 - MANEIO REPRODUTIVO.....	57
1.3.2.1 - Idade de entrada à reprodução	57
1.3.2.2 - Época de cobrição.....	57
1.3.3 - MANEIO HIGIO-SANITÁRIO	57
1.3.4 - MANEIO PROFILÁCTICO.....	58
2 - AS ESTRUTURAS.....	59
2.1 - OS LOCAIS.....	59
2.1.1 - PRINCÍPIOS DE IMPLANTAÇÃO DOS LOCAIS.....	59
2.1.2 - A SALA DE RECOLHA E MONTA	60
2.1.3 - SALA DE LAVAGEM.....	60
2.1.4 - LABORATÓRIO	61

2.1.5 - SALA DE INSEMINAÇÃO	61
2.1.6 - SALA DE CONGELAÇÃO	61
2.2 - O MATERIAL	62
2.2.1 - TEMPERATURA DOS APARELHOS	62
2.2.2 - MATERIAL EM CONTACTO COM O ESPERMA	62
2.2.3 - AS PIPETAS : SUA UTILIZAÇÃO E CUIDADOS.....	63
2.2.4 - ESPECTOFOTÓMETRO	63
2.2.5 - CÂMARA DE NEOBAUER	64
2.2.6 - MICROSCÓPIO	64
2.2.7 - MEDIDOR DE pH	65
2.3 - O PESSOAL	65
2.3.1 - ACESSO DO PESSOAL	65
2.3.2 - REPARTIÇÃO DAS TAREFAS	65
2.3.3 - VESTUÁRIO	65
2.3.4 - HIGIENE DAS MÃOS	66
3 - OS MÉTODOS.....	67
3.1 - PREPARAÇÃO DOS DILUIDORES	67
3.1.1 - DILUIDOR BASE (LEITE + ANTIBIÓTICOS).....	67
3.1.2 - DILUIDOR INRA 84-HEPES.....	68
3.1.2.1 - Material necessário	69
3.1.2.2 - Técnica de pesagem	69
3.1.2.3 - Preparação	69
3.1.3 - DILUIDORES DE CONGELAÇÃO (MÉTODO PALMER 84).....	70
3.1.3.1 - Diluidor DI (diluidor de centrifugação).....	70
3.1.3.2 - Diluidor DII (Diluidor de Congelação).....	71
3.1.4 - ESCOLHA DO LEITE E ÁGUA	72
3.1.5 - ESCOLHA DOS ANTIBIÓTICOS	72
3.1.6 - ARMAZENAMENTO DOS DILUIDORES.....	73
3.2 - FORMAÇÃO DE GRUPOS DE TRABALHO.....	73
3.3 - A RECOLHA DO ESPERMA.....	74
3.3.1 - O MANEQUIM	74
3.3.2 - A ÉGUA	75
3.3.3 - A VAGINA ARTIFICIAL.....	76
3.3.4 - A RECOLHA.....	76
3.4 - ESPERMIOGRAMA	78
3.4.1 - ORGANIZAÇÃO	78
3.4.2 - PREPARAÇÃO DO MATERIAL (PARA UM GARANHÃO)	78
3.4.3 - EXAME DAS CARACTERÍSTICAS DO GARANHÃO E ESPERMA	79

3.4.3.1 – Garanhão.....	79
3.4.3.2 - Esperma.....	80
3.4.3.3 – Redacção e difusão do documento (espermiograma).....	80
3.5 - CONGELAÇÃO.....	81
3.5.1 - PREPARAÇÃO DO ESPERMA PELA TÉCNICA BASE.....	81
3.5.2 – PREPARAÇÃO DO ESPERMA PELA TÉCNICA EXPERIMENTAL.....	85
3.5.3 – ENCHIMENTO DAS PALHINHAS.....	85
3.5.4 - CONGELAÇÃO.....	87
3.5.4.1 - Considerações gerais sobre o azoto líquido e os contentores.....	87
3.5.4.2 - Congelação de (4° C a – 196° C).....	87
3.5.4.3 - Princípios de manipulação das palhinhas no contentor.....	89
3.6 – DESCONGELAÇÃO E ANÁLISE DO ESPERMA.....	91
3.6.1 – TÉCNICA DE DESCONGELAÇÃO.....	91
3.6.2 – PROCESSO DE ANÁLISE E CLASSIFICAÇÃO DO ESPERMA.....	92
3.7 – ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	93
IV – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	94
1 – RESULTADOS DOS ESPERMIOGRAMAS.....	94
1.1 – CARACTERÍSTICAS QUE EVIDENCIAM UMA RELAÇÃO COM AS TAXAS DE FERTILIDADE.....	94
1.2 – CARACTERÍSTICAS QUE MANTÊM UMA RELAÇÃO COM A FERTILIDADE INCERTA.....	100
1.3 – CARACTERÍSTICAS QUE NÃO TÊM RELAÇÃO COM A FERTILIDADE.....	103
1.4 – RELAÇÃO ENTRE AS VÁRIAS CARACTERÍSTICAS DO ESPERMIOGRAMA.....	104
2 – RESULTADOS DA CONGELAÇÃO.....	108
2.1 – RESULTADOS SEGUNDO OS GRUPOS DE TRABALHO.....	108
2.2 – RESULTADOS SEGUNDO OS GRUPOS DE IDADES.....	110
2.3 – RESULTADOS SEGUNDO A TÉCNICA DE CONGELAÇÃO UTILIZADA.....	112
V - CONCLUSÕES.....	114
VI - BIBLIOGRAFIA.....	117

RESUMO

Com vista a avaliar as características seminais de 29 garanhões da raça Sela-Francês, para definir qual a melhor técnica de congelação de esperma desses garanhões, e para estabelecer uma relação entre as suas características seminais e a congelabilidade do seu esperma, uma técnica de espermiograma e duas técnicas de congelação foram utilizadas durante um estágio realizado entre 02/09/1996 e 28/02/1997 no laboratório da Coudelaria Nacional de Saint-Lô, pelo aluno estagiário Gabriel Matias Gil da Escola Superior Agrária de Castelo Branco.

A principal diferença entre as técnicas de congelação reside na utilização de dois diluidores e duas temperaturas de diluição diferentes na Técnica Base, enquanto que na Técnica Experimental só foi utilizado um diluidor, contendo glicerol, e uma temperatura de diluição.

A técnica de espermiograma baseava-se em numa recolha diária de esperma durante 5 dias seguidos, após a qual se procedia à avaliação das características do esperma

Foram recolhidos 279 ejaculados, congelados por ambas as técnicas e analisados após descongelação.

A avaliação dos resultados das técnicas de congelação pelos grupos trabalho, evidencia diferenças estatisticamente significativas entre a Técnica de congelação Experimental e a Técnica Base (81,20 vs 35,37).

Contudo, a avaliação das técnicas por grupo_técnica, feita com base no esperma proveniente dos mesmos garanhões evidencia resultados semelhantes (50,30 vs 43,89).

Nos espermiogramas não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas, entre as principais características seminais e os grupos de idades dos garanhões, e não foi possível estabelecer nenhum tipo de relação entre essas características seminais e as diferenças estatisticamente significativas encontradas nos resultados da congelação por grupos de idades dos garanhões, e por grupos de trabalho.

Palavras-chave: Diluidor; Espermiograma; Técnicas de congelação; Garanhão; Glicerol..