



CRIOCONSERVAÇÃO DE SÊMEN E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CÃES

Fabiane Veiga¹, Vitória Lorenzoni¹, Luiz Felipe Kruel Borges²

Palavras-chav: Inseminação. Cães. Sêmen. Crioconservação.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a reprodução de pequenos animais tem apresentado um gradativo interesse por via dos médicos veterinários em maior aproveitamento do material genético para incrementar essas biotécnicas na criação dos cães e gatos (GONÇALVES; FIGUEIREDO; FREITAS, 2008). A técnica de inseminação artificial (IA) é muito utilizada na medicina veterinária para contribuir na reprodução canina considerando a preservação de algumas raças com alto valor zootécnico. A IA pode ser com sêmen refrigerado ou congelado e atua ajudando em diversos riscos, dentre eles, a chance de contaminação nos machos durante a monta natural, o estresse causado com o deslocamento dos animais e também muitas vezes o ato de agressividade na hora de acasalamento. Tendo em vista que o custo é inferior comparado com o gasto aéreo, hospedagem e acompanhamento reprodutivo da fêmea longe de casa (UCHOA et al., 2007).

Com as várias biotécnicas reprodutivas, tem se destacado a crioconservação de sêmen que viabiliza um melhor aproveitamento de ejaculado proveniente de um mesmo reprodutor, além de poder armazenar este material genético até mesmo após a morte desse animal.

A utilização do sêmen congelado tem a vantagem de proporcionar a manutenção do conteúdo fecundante por um espaço indeterminado de tempo, além de evitar o estresse com o ato de acasalamento (LINDE-FORSBERG & FORSBERG, 1989).

Essa revisão tem como objetivo mostrar a técnica de crioconservação de sêmen, relatando alguns resultados com gestações.

2 METODOLOGIA

As técnicas variam conforme o diluente, os protetores de resfriamento, e os agentes crioprotetores. Na técnica descrita por Andersen (1975) foi utilizada a diluição do sêmen a

¹ Discentes do curso de medicina veterinária, da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: fabianevegasveiga@hotmail.com, vi_lorenzoni@hotmail.com

² Docente da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: kruelborges@gmail.com



37°C Tris acrescido de 20% de gema de ovo, também considerada não penetrante e 8% de glicerol. Após o tempo de 3 horas para o equilíbrio o envase de palhetas plásticas de 0,5 mL e a exposição dos vapores de nitrogênio para a criopreservação. Essa técnica tem sido mostrada como base para trabalhos com acréscimo de algumas modificações alcançando bons resultados *in vitro* e *in vivo* (STRÖM et al., 1997; UCHOA, 2011).

Alguns estudos mostram que os espermatozoides sofrem mais alterações quando são descongelados do que durante o processo de congelação (ROTA et al., 1998). Segundo Hammerstedt (1990) quando a taxa de congelação for rápida deve-se manter a taxa de descongelação rápida também para ter a dissolução dos cristais de gelo que se formam no processo.

Recentemente existem vários protocolos de temperatura e velocidade de descongelamento do sêmen, mas Silva (1998) sugere que a temperatura de 37 °C por 60s, em banho maria, resulta numa menor alterações morfológicas espermáticas do que a de 50 °C por 30s. Diante de razões mais práticas a técnica de descongelamento do sêmen canino acontece em temperatura de 37°C, porém alguns pesquisadores tenham encontrado que temperaturas maiores aumentam a visibilidade após o descongelamento (ROTA et al., 1998). Isto é recomendado, provavelmente, pelo fato de que as diminuições dos riscos de recristalização dos microcristais intracelulares podem acontecer com a descongelação lenta.

As taxas de gestação já descritas variam conforme a via de inseminação e o tipo de conservação seminal. Segundo Uchoa (2011), o sêmen fresco obteve taxa de 91% utilizando o diluidor ACP-106c, intra-vaginal. No refrigerado mostrou o mesmo percentual utilizando o diluidor e via de inseminação iguais do estudo anterior. Na técnica congelado-descongelado se mostrou um índice mais baixo de 60%, seguindo exatamente o mesmo protocolo. Porém Silva (1996) relatou ter o resultado de 100% com diluidor biociphos e via intrauterina.

As doses das inseminações variam muito. Para sêmen fresco relatam 150 a 300 milhões (SILVA et al., 1996). Pinto et al (1999) relatam o uso de 260 a 350 milhões de espermatozoides para IA com sêmen refrigerado e para o congelado-descongelado utiliza-se 100 a 700 milhões (SILVA et al., 1996).

3 PRINCIPAIS RESULTADOS DE CRIOPRESERVAÇÃO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CÃES

No século XVIII iniciou a tecnologia com reprodução assistida em cães. Spallanzani foi o primeiro a apontar que conforme reduzia a temperatura diminuía a atividade metabólica



do espermatozoide, permitindo assim o armazenamento (WATSON, 1979). Nos cães o primeiro estudo é relatado por Rowson (1954), no entanto o nascimento canino só foi descrito anos depois por Seager (1969). No Brasil, a IA com sêmen crioconservado só teve resultado a pouco mais de 30 anos, tendo sido obtido uma ninhada da raça Boxer, com seis cães normais (VASKE et al., 1981).

Na atualidade vários estudos mostram que a crioconservação de sêmen tem se formado mais frequente para fins de reprodução impossibilitando o estresse tanto com transporte quanto na hora da monta, e os custos com deslocamento dos cães (UCHOA, 2011).

No entanto, o sêmen em crioconservação resulta em diminuição de fertilidade comparada com sêmen fresco. O estresse na técnica se dá principalmente pela mudança de temperatura e dissolução de cristais de gelo promovendo injúria às organelas celulares (WATSON, 1995). Apontado isso, o meio diluente juntamente com os crioprotetores possibilita a proteção dos espermatozoides dos choques térmicos e osmóticos do congelamento (CASTELO et al., 2008).

Para o congelamento e o resfriamento são utilizados diluentes por um período que pode variar de meses a anos. Esses são meios em que o pH e osmolaridade são compatíveis com o plasma (UCHOA ET AL, 2011). Nos meios de diluição torna-se necessário o uso de crioprotetores que fazem proteção do espermatozoide durante o equilíbrio, congelação e descongelamento (CONCANNON & BATTISTA, 1989). Os crioprotetores podem ser penetrantes e não penetrantes. Hidroxitolueno butilato considerada não penetrante restauram os fosfolipídios perdidos durante o choque térmico. Já o glicerol é tido como crioprotetores penetrantes (UCHOA, 2011).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários resultados já foram relatados com a crioconservação e inseminação artificial de sêmen em caninos, entretanto sempre é preciso o uso de mais pesquisas para padronizar e aperfeiçoar os protocolos para obter resultados mais próximos aos com sêmen fresco.

REFERÊNCIAS

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Roca, 2008.

UCHOA, D.C.; SATZINGER, S.; AMARAL, M.C.; SILVA, L.D.M. O uso de diferentes diluidores para inseminação artificial com sêmen canino refrigerado. **Anais...** In: Congresso



Brasileiro de Reprodução Animal. Curitiba, Paraná. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.182, 2007.

WATSON, P.F. The preservation of semen in mammals. Oxford **Reviews Reproduction and Biology**. v. 1, p. 183-350, 1979.

VASKE, T. R.; MORAES, H. F.; ROMÃO, A.R.; BLASI, A.C.; PERASSI, P.; AUN, G.C. Seis cães normais nascidos de sêmen congelado. **A Hora Veterinária**, v.1, p.15 –18, 1981.

ROWSON, L.E.A. Infertility of cow, sow and bitch. **Irish Veterinary Journal**, v.8,p.216-21, 1954.

SEAGER, S.W.J. Successful pregnancies utilizing frozen dog semen. **Artificial Insemination Digest**, p.17-26, 1969.

UCHOA, D. C. **Água de coco em pó (ACP-106c) como diluente para conservação de sêmen e inseminação artificial na espécie canina**. 2011. 195f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2011.

WATSON, P.F. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. **Reproduction Fertility and Development**, v.7, p.871-891, 1995.

CASTELO, T. S.; FROTA, T. R.; SILVA, A. R. Considerações sobre a criopreservação do sêmen de caprinos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.3, p.67-75, 2008.

CONCANNON, P.W.; BATTISTA, M. **Canine semen freezing and artificial insemination**. In: KIRK R.W. Current veterinary therapy. Philadelphia: WB Saunders, p. 1247-1259, 1989.

ROTA A, LINDE-FORSBERG C, VANNOZZI J, ROMAGNOLI S, RODRIGUESMARTINEZ H. Cryosurvival of dog spermatozoa at different glycerol concentrations and freezing/thawing rates. **Reprod Dom Anim**. v. 33, p. 355-361, 1998.

SILVA, A. R.; CARDOSO, R. C. S., SILVA, L. D. M. Efeito do processo de descongelação sobre a viabilidade do sêmen canino in vitro. **Ciência Animal**, v. 8, p.75- 80, 1998.

IVANOVA-KICHEVA, M.G.; SUBEV, M.S.; BOBADOV, D.P.; ROUSEVA, I.A. Effects of thawng regimens on the morphofunctional state of canine spermatozoa. **Theriogenology**, v.44, p.563-569, 1995.

SILVA, L. D. M.; ONCLIN, K; LEJEUNE, B.; VERSTEGEN, J.P. Comparisons of intravaginal and intrauterine insemination of bitches with fresh or frozen semen. **Veterinary Record**, v. 138, p. 154-157, 1996.

PINTO, C.R.F.; PACCAMONTI, D.L.; EILTS, B.E. Fertility in bitches artificially inseminated with extended, chilled semen. **Theriogenology**, v. 52, p. 609-616, 1999.