

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

AVALIAÇÃO DE SÊMEN CAPRINO DILUÍDO EM ÁGUA DE COCO EM PÓ E
MANTIDO SOB REFRIGERAÇÃO

Lucas Bastos Batista

2008



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

AVALIAÇÃO DE SÊMEN CAPRINO DILUÍDO EM ÁGUA DE COCO EM PÓ E
MANTIDO SOB REFRIGERAÇÃO

Lucas Bastos Batista
Graduando

Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro
Orientador

Patos
Setembro de 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE DE TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

Lucas Bastos Batista
Graduando

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADO EM 26/09 /2008

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro

Profª Drª. Norma Lúcia de Souza Araújo

Profª Drª Sara Vilar Dantas Simões

Dedico não só este trabalho, mas toda a minha vida aos meus pais, Luiz Batista e Adnara Bastos, por nunca terem medidos esforços para que eu pudesse alcançar meus objetivos e por sempre acreditarem em meu empenho e dedicação durante minha vida acadêmica.

*Eternos agradecimentos.
Obrigado!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado força e coragem para superar todas as dificuldades que surgiram durante a minha vida.

Aos meus pais, Adnara Bastos e Luiz Batista, por todo amor, carinho, pela educação que me deram e apoio para que eu pudesse realizar o sonho de me tornar Médico Veterinário, pois tudo que sou devo a vocês!

Ao meu irmão Conrado, pelos conselhos e apoio de irmão mais velho que sempre me deu.

A minha namorada, Maria Ivana, pelo amor e carinho e por todos os momentos nos quais sempre estive ao meu lado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Peña, a quem devo muito carinho e admiração, pela oportunidade que me deu e todo apoio durante a conclusão desse trabalho.

A Verinha, Aline Guedes e Cristiane, pela grande ajuda que me deram para que este trabalho pudesse ser concluído.

Ao Prof. Antônio Flávio, por ceder os animais necessários à realização do experimento.

Aos demais professores e funcionários da instituição, pelo empenho e dedicação com os alunos, e por transformarem o curso de Medicina Veterinária num dos melhores do país.

Aos meus grandes amigos e amigas que fiz durante esses anos e que não poderia deixar de citar, Ari, Antônio César, Bruno Fernandes, Bruno Rafael, Carlos Eduardo, Carlos Átila, Érico, Fernando, Francisco Jânio, Francisco Heitor, Flávio, Getúlio, José Matias, Jorge Henrique, Mateus, Max Bruno, Otávio, Paulo Henrique, Rafael, Tiago. Maiza, Layse, Lucélia, Andréa, Poline, Gabriela, Sheina, Francianne, Clarisse, Milenna, Thais, Laninha, Cris e Kamila.

E agradeço a todos aqueles que participaram de forma efetiva em minha vida durante esses cinco anos de curso, meus eternos agradecimentos!

Muito obrigado!

Oração do Médico Veterinário

“Senhor”,
Perante o altar de minha consciência
neste Templo Universal com alma
ajoelhada;
venho pedir-vos;
A força para doar meus
conhecimentos profissionais de
Médico Veterinário em prol da
salvação e do bem estar da vida
animal.
A graça de compreender a
responsabilidade e o privilégio de
lutar e proteger a vida animal além de
promover o convívio fraterno entre os
homens e demais espécies
Peço que corrija minhas atitudes para
que não falhe e caso venha
acontecer que eu seja humilde de
admiti-las e seja profissional o
suficiente para corrigi-las.
Que em primeiro lugar esteja o
socorro dos seres indefesos e o alívio
de sua dor.
Que eu ame, socorra e alivie os
animais, nossos menores, como faria
ao ser humano.
Afastai do meu coração a cobiça e a
mesquinhez. Que eu tenha
compaixão, caridade e respeito por
tudo que criaste. E que eu consiga
com o dom que Tu me
deste exercer com profissionalismo,
competência e humanidade a minha
linda profissão de Médico Veterinário,
cuidando com amor de uma das
obras que Criaste.”
Amém!”

SUMÁRIO

Pág

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVO.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1. Considerações anatômicas.....	14
3.1.1. Anatomia do aparelho reprodutor masculino.....	14
3.2. Fisiologia reprodutiva.....	15
3.2.1. Espermatogênese.....	16
3.2.2. Ejaculação.....	17
3.3. Métodos de coleta.....	18
3.4. Sêmen resfriado.....	19
3.5. Tipos de diluentes para sêmen.....	20
3.6. Teste hiposmótico.....	21
4. MATERIAL E METÓDOS.....	23
4.1. Escolha dos reprodutores.....	23
4.2. Coleta e avaliação do sêmen.....	23
4.3. Realização teste hiposmótico.....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
6. CONCLUSÃO.....	30
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

LISTA DE TABELAS

- Tabela 01.** Motilidade individual progressiva de espermatozóides de caprinos da raça Moxotó, submetidos à diluição com água de coco em pó. Patos, 2008.....26
- Tabela 02.** Vigor de espermatozóides de caprinos da raça Moxotó, submetidos à diluição com água de coco em pó. Patos, 2008.....27
- Tabela 03.** Reação ao teste hiposmótico de sêmen caprino diluído em água de coco em pó, utilizando três soluções nos tempos 12, 24 e 48 horas de refrigeração a 5°C.....28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aparelho reprodutor masculino (caprino).....	15
Figura 2. Fatores que interferem na puberdade do macho.....	16

RESUMO

BATISTA, LUCAS BASTOS. Avaliação de sêmen caprino diluído em água de coco em pó e mantido sob diferentes períodos pós diluição. Projeto de Pesquisa. UFCG. 2008. 34p. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) em Reprodução Animal. Medicina Veterinária

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade espermática de caprinos da raça Moxotó utilizando diluente à base de água de coco, refrigerado a 5° C. Foram avaliados a motilidade individual progressiva, o vigor, turbilhonamento e a resposta ao teste hiposmótico, nos espermatozóides de dois caprinos, submetidos à diluição com água de coco, refrigerados à 5° C. Foram utilizadas três soluções, SOLUÇÃO 1 - 0.735g de citrato de sódio e 1.351g de frutose em 100ml de água destilada, com osmolaridade de 150 mOsmol /L; SOLUÇÃO 2 - 1.470g de citrato de sódio e 2.702g de frutose em 100ml de água destilada, com osmolaridade de 300 mOsmol/L; SOLUÇÃO 3 - 100 ml de água destilada. Foram realizadas quatro coletas, em cada reprodutor, com intervalo de uma semana, usando eletroejaculador. O sêmen foi avaliado imediatamente após a coleta, quanto às características macro e microscópicas, e submetidas ao teste hiposmótico (HOST) após 12, 24 e 48 horas. Os resultados mostraram que a motilidade individual progressiva e o vigor espermático não sofreram diminuição significativa nos momentos 12, 24 e 48 horas. Mostra-se ainda, que o uso das soluções hiposmóticas 1 e 2 nos diferentes tempos não mostrou diferença nas alterações hiposmóticas da cauda, concluindo que as soluções possibilitam a avaliação da integridade da membrana plasmática.

Palavras-chave: teste hiposmótico, caprinos, sêmen resfriado, água de coco

ABSTRACT

BATISTA, LUCAS BASTOS. .Projeto of Research. UFCG. 2008. 34p. Work of Conclusion of Course (Monograph) in Animal Reproduction. Veterinary medicine

The present work had the aim to evaluate the spermatic viability of goat of the Moxotó race using extenly of coconut water, refrigerated 5th C. were appraised the motibility , vigot and the answer to the hiposmotic test, in the spermatozoids of, submitted to the dilution with coconut water, refrigerated 5th C. three solutions were used, SOLUTION 1 - 0.735g of citrate of sodium and 1.351g of fructose in 100ml of water distilled, with osmolarity of 150 mOsmol / L; SOLUTION 2 - 1.470g of citrate of sodium and 2.702g of fructose in 100ml of water distilled, with osmolarity of 300 mOsmol/L; SOLUTION 3 - 100 ml of water distilled. Four collections were accomplished, in each male, with interval of one week, using eletroejaculador. The semen was evaluated immediately after the collection, and submitted to the hiposmótic test (HOST) after 12, 24 and 48 hours. The results showed that the progressive individual motility and the vigot didn't suffer significant decrease in the moments 12, 24 and 48 hours. The hiposmótic test solutions showed similar result on the evolution of the plasmatic membrane of the spermatozoa no different was observel between solution 1 and 2, and we can recowend it for the evolution of the plasmatic membrane integrity.

Word-key: hiposmotic test, goat, refrigerated semen, coconut water powder-extenly.

1. INTRODUÇÃO

A cabra doméstica (*Capra hircus*) foi o primeiro animal a produzir alimento (leite e carne) domesticado pelo homem, há cerca de 7.000 anos, servindo também para produzir couro, pêlo e esterco. Sendo o leite de cabra o terceiro em produção mundial, depois do de vaca e de búfala. Estima-se que em 2005 foram produzidos 12,4 bilhões de litros de leite de cabra no mundo, o que corresponde a 2% da produção mundial (CNPGL, 2006).

Segundo a FAO (2001), o rebanho mundial de caprinos em 2.000 era de 715.297.550 cabeças, das quais 96% estão em países em desenvolvimento, com apenas 4% nos países desenvolvidos, salientando que 40 anos atrás o efetivo caprino dos países desenvolvidos era de 31,7 milhões de cabeças, sendo atualmente 29,1 milhões, o que representa um decréscimo de 9%, enquanto nos em países em desenvolvimento esse número era 315,9 milhões em 1961 e de 686,2 milhões em 2.000, mostrando um aumento de 117%. Atualmente a China é o maior rebanho mundial, com 148,4 milhões de cabeças, o que representa 20% do efetivo mundial. Em seguida vêm a Índia e o Paquistão. O Brasil fica na décima colocação, com um rebanho de 12.600.000 cabeças, cerca de 2% do rebanho mundial.

Com relação à distribuição geográfica do efetivo caprino brasileiro, pelos dados do IBGE (2005), referentes ao censo agropecuário de 1996, o quadro apresenta um padrão idêntico ao mundial. Considerando-se as regiões Sul e Sudeste como desenvolvidas e Norte, Centro-Oeste e Nordeste como em desenvolvimento, 4% dos caprinos estão no primeiro grupo e 96% no segundo. Vale ressaltar que 94% do rebanho nacional está na região Nordeste, onde prevalecem condições edafo-climáticas desfavoráveis. Nessa situação os caprinos assumem uma grande importância social, pois chegam a ser a única fonte de renda em determinadas circunstâncias e deles depende a sobrevivência de muitos nordestinos.

O desempenho reprodutivo determina, em grande parte, a quantidade a ser comercializada e é através dela que o melhoramento genético se efetiva. Encontram-se nessa situação a inseminação artificial e a transferência de embriões.

Neste sentido surge a necessidade de aperfeiçoar os processos de tecnologia de sêmen quanto ao uso de diluentes e suas concentrações, bem como avaliar as alterações da integridade espermática e sua viabilidade, na relação com os diferentes períodos de manutenção da forma refrigerada.

O teste hiposmótico (HOST) tem sido apontado como método prático para prever a fertilidade dos reprodutores e eficácia de protocolos de tecnologia de sêmen, por possibilitar uma análise das lesões da membrana plasmática.

Assim, apesar de ser um teste relativamente novo para avaliar a integridade funcional da membrana plasmática do espermatozóide, o HOST deve ser considerado como indicador de fertilidade, já que a viabilidade da membrana é um requisito básico para que ocorra a fertilização (MELO,1999).

Deste modo, a finalidade deste estudo foi avaliar a viabilidade espermática de caprinos por meio da avaliação da integridade funcional da membrana celular dos espermatozoides, através da utilização do teste hiposmótico (HOST).

2. OBJETIVOS

- 1) Avaliar a motilidade individual progressiva e o vigor dos espermatozóides de caprinos, submetidos a resfriamento em diferentes períodos;

- 2) Avaliar a eficácia do uso do teste hiposmótico na análise da integridade plasmática do sêmen caprino resfriado;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Considerações Anatômicas

Um bom conhecimento anatômico do aparelho reprodutor masculino é de suma importância para o entendimento do funcionamento do sistema reprodutivo, bem como a sua localização e características morfológicas.

3.1.1. Anatomia do Aparelho Reprodutor Masculino

O aparelho reprodutivo masculino dos caprinos é constituído por:

1. Testículos: em número de dois, com forma ovalada, alojados na bolsa escrotal, em posição vertical, com um peso de 50 a 150 gramas. São simétricos e de consistência firme. Sua função é produzir espermatozóides e hormônios;
2. Epidídimo; canal que serve para transporte e reservatório de espermatozóides produzidos no testículo;
3. Ducto deferente: tem a função de transportar os espermatozóides no momento da ejaculação;
4. Pênis: é o órgão masculino responsável pela cópula, ou seja, através dele os espermatozóides são depositados no órgão genital feminino;
5. Uretra: canal que transmite as secreções reprodutivas e urinárias;
6. Prepúcio: é uma camada de pele que recobre e protege o pênis;
7. Glândulas acessórias do pênis: são responsáveis pela produção de líquidos que nutrem os espermatozóides e estão situados junto à uretra. São elas: glândulas vesiculares (vesículas seminais), a próstata, as glândulas bulbouretrais e a ampola.

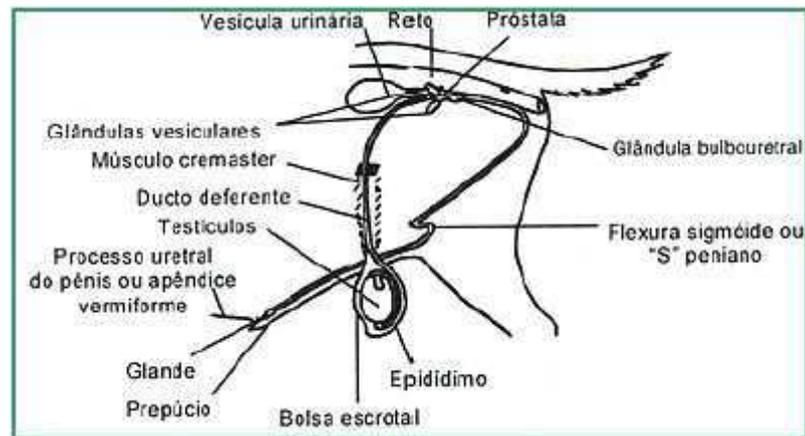


Figura 1. Aparelho reprodutor masculino (caprino)

3.2 FISIOLOGIA REPRODUTIVA

O início da atividade sexual no macho se dá com o aparecimento da puberdade, esse fenômeno é marcado pelo aparecimento de instintos reprodutivos (monta em machos e fêmeas, interesse sexual pelas fêmeas, agressividade), porém a puberdade total só é alcançada quando os espermatozóides encontram-se viáveis para a fecundação. Além dessas características, a puberdade no macho e na fêmea é influenciada por diversos fatores externos, tais como alimentação, clima e interação social; e internos, tais como hormônios atuantes, raça (genética) e desenvolvimento ponderal. O desenvolvimento da puberdade dá-se, apesar de todos esses fatores desencadeantes, com a ativação do eixo hipotálamo-adeno-hipófise-gonadal. Essa ativação permite a produção dos hormônios de forma ordenada determinando o desencadear da espermiogênese, bem como assegurando que o animal seja capaz de executar uma cobertura fértil. Cada fator apresenta uma particularidade e influência importante para o desencadeamento da puberdade e desenvolvimento das atividades reprodutivas. O esquema a seguir aponta a influencia no aumento do tamanho testicular, bem como a interação hormonal que desencadeia o processo de produção de espermatozóides (espermatogênese) e seu comportamento sexual.



Figura 2. Fatores que interferem na puberdade do macho

3.2.1 ESPERMATOGÊNESE

É o processo pelo qual se dá a transformação das células do epitélio germinativo (espermatogônias) em espermatozóides. Ocorre a partir de várias reações mitóticas (divisão em células com cromossomos diplóides $2n$) e meióticas (divisão em células com cromossomos haplóides n), de acordo com cada espécie, de forma que os espermatozóides apresentem no final um número haplóide de cromossomos (espermátide).

As espermátides sofrem um processo denominado espermiogênese onde irão sofrer várias alterações nucleares e citoplasmáticas, além da formação de um flagelo, dando uma característica móvel à célula. As espermátides maduras são liberadas no lúmen dos túbulos seminíferos como espermatozóides (espermiação), de lá, são transportados através da *rete testis* para os epidídimos, onde são armazenados e amadurecidos.

A espermatogênese é um processo ininterrupto uma vez que iniciado, podendo haver, algumas vezes, uma variação no ritmo de produção, dependendo da quantidade de luz fornecida (fotoperíodo).

O controle hormonal é feito pela produção gonadotrófica das células de Leydig e Sertoli no interior dos testículos. A testosterona produzida pelas células de Leydig é controlada pelo hormônio luteinizante (LH). Um decréscimo nos níveis de testosterona leva a um aumento na secreção de LH, esse aumento estimula as células de Leydig a secretarem testosterona que, quando elevada, inibe a secreção adicional de LH, estabilizando assim os níveis de testosterona. A testosterona é responsável pela manutenção da espermatogênese no suporte do processo meiótico.

O hormônio folículo-estimulante (FSH) é responsável pela produção da proteína andrógeno-aglutinante (ABP) pelas células de Sertoli. A ABP liga-se com a testosterona e outros andrógenos para estabilizar suas concentrações e manter quantidades apropriadas para a espermatogênese, além de estimular a secreção de estrógenos pelas células de Sertoli. As células de Sertoli produzem um hormônio conhecido como inibina, que inibe a secreção de FSH.

Ao passo que o LH é requerido continuamente para a espermatogênese (suporte da meiose pela testosterona), o FSH não é essencial para sua manutenção uma vez que tenha se iniciado.

3.2.2 EJACULAÇÃO

Chegada à puberdade, o macho atinge a maturidade sexual e está apto para iniciar as suas atividades reprodutivas, o processo é percebido com o aumento da libido e o mecanismo da cópula se dá da seguinte forma: inicia-se com a ereção do pênis que ocorre devido a um aumento na turgidez do pênis provocada pela elevação na pressão sanguínea no interior dos seios cavernosos por um maior fluxo de entrada de sangue do que saída, controlada pela ação parassimpática causando dilatação arterial, e contração da musculatura peniana promovendo vasoconstricção. Em ruminantes, como é o caso dos caprinos, o relaxamento do músculo retrator do pênis provoca a eliminação da flexura sigmóide e conseqüente alongamento deste.

A monta é a posição que o macho assume onde o pênis ereto é levado em aposição à vulva da fêmea, que assume comportamento receptivo. A introdução do pênis no interior da vagina e manutenção durante o coito é o processo conhecido como intromissão. O pênis só se encontrará completamente túrgido depois de penetrado no interior da vagina pois esta comprime o prepúcio e a drenagem venosa é obstruída.

Com o aumento do estímulo sexual, devido ativação dos nervos sensoriais localizados na glândula, um ponto máximo é atingido nos centros reflexos da medula espinhal, daí se dá a emissão e ejaculação. Esta ocorre devido ativação da inervação simpática com a qual o esperma e fluidos nos vasos deferentes e ampolas são esvaziados no interior da uretra juntamente com o plasma seminal das glândulas acessórias. Completada a ejaculação, um peristaltismo reflexo nos músculos uretrais propõe o conteúdo em direção ao orifício uretral externo, auxiliado pela contração do músculo bulboesponjoso. Essa combinação de pressão e peristaltismo força o conteúdo para o exterior da uretra, caracterizando o processo de ejaculação.

O plasma seminal é quem fornece um ambiente ideal para a sobrevivência dos espermatozoides no interior do trato reprodutivo da fêmea, é rico em eletrólitos, frutose, ácido ascórbico e outras vitaminas. “Embora a fertilização possa ocorrer pelos espermatozoides sem a ajuda do plasma seminal, ele provoca um maior potencial de fertilização” (REECE, 1996)

3.3 MÉTODOS DE COLETA DE SÊMEN

A coleta do sêmen em caprinos pode ser realizada através de vagina artificial ou eletroejaculação. A vagina artificial é o método mais indicado pois imita as condições de pressão e temperatura (35° C) da vagina da cabra, além de ser um procedimento menos traumático para o reprodutor, porém necessita de uma fêmea que servirá como manequim e uma mão de obra mais especializada. De preferência utiliza-se como manequim uma fêmea que se encontre no cio, para despertar maior interesse por parte do macho. No momento em que o animal monta, faz-se o desvio do pênis introduzindo-o na vaginal artificial, para que o animal ejacule no interior do tubo coletor que vem acoplado à vagina. O sêmen coletado deve ser protegido de

luz solar, poeira e evitar agitações bruscas (LIMA, 2000) in (GRANADOS et al, 2006).

A eletroejaculação é mais utilizada na espécie bovina, em caprinos e ovinos acredita-se que produza um sêmen de baixa concentração e qualidade (GRANADOS et al, 2006), sendo mais utilizado em animais impossibilitados de montar. 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. Recomenda-se que os estímulos sejam efetuados a cada dez segundos com um aumento gradativo de um volt. A ejaculação ocorre com 4 a 7 estímulos. O volume do ejaculado é levemente superior, e a qualidade do sêmen é um pouco superior do que as amostras colhidas com a vagina artificial.

3.4 SÊMEN RESFRIADO

Para uso nos métodos de inseminação artificial, o sêmen caprino pode ser utilizado na forma fresco (puro ou diluído), refrigerado ou congelado. A utilização do sêmen a fresco proporciona a manutenção das características físicas e morfológicas espermáticas, porém, dentro de um curto espaço de tempo.

O uso de sêmen congelado permite a conservação do material genético por mais tempo, além de possibilitar o seu transporte por longas distâncias, de um país para outro por exemplo. Entretanto, a estocagem de sêmen na forma congelada causa mudanças estruturais, bioquímicas e funcionais nas células espermáticas resultando, inevitavelmente, na redução da qualidade e no número de espermatozóides viáveis após descongelamento.

O resfriamento do sêmen, apesar de apresentar melhores resultados quando comparado ao congelado, também pode causar danos irreversíveis ao espermatozóide, em virtude do choque térmico, que pode ser minimizado pelo resfriamento lento do sêmen diluído. Para MACHADO e SIMPLÍCIO (1995), a taxa de resfriamento do sêmen caprino deve estar compreendida entre 0,25° C e 0,35° C/minuto, até que a temperatura final de 5° C seja atingida. Neste caso, a motilidade espermática é mantida, mesmo que a baixos níveis, por alguns dias.

Desta forma a utilização do sêmen resfriado proporciona maior viabilidade espermática quando comparado ao congelado, além de facilitar o transporte de material genético entre propriedades, sendo, neste caso, uma alternativa à exportação e importação de sêmen (SIQUEIRA, 2006), por exemplo, uma amostra coletada na região Sul pode muito bem ser utilizada na região Nordeste e apresentar resultados satisfatórios.

3.5 TIPOS DE DILUENTES PARA SÊMEN

Os diluentes atuam como nutrientes, fazem a manutenção do pH do meio, são bactericidas, melhoram o aproveitamento do ejaculado, fazem manutenção da pressão osmótica e permitem sobrevivência do espermatozóide após o procedimento de resfriamento.

Vários diluidores têm sido testados para uma melhor preservação do sêmen caprino, sendo observados resultados bastante variáveis quanto à viabilidade espermática. Entre os existentes, podem ser citadas aquelas à base de gema de ovo, em concentrações que variam de 20 a 1,5%, à base de leite em pó desnatado com adição de glicose, tris, água de coco em pó, citrato de sódio, lactose, ou associações desses (SIQUEIRA, 2006).

As diferenças observadas quando da utilização de diluidores contendo gema de ovo se deve a variação sazonal e individual na concentração da enzima coaguladora da gema de ovo no plasma seminal e, à variação na composição da gema do ovo, dependendo da linhagem da ave, (CORTEEL, 1973), citado por SIQUEIRA (2006).

O ácido 3 – indol acético, uma fração da água de coco pertence ao grupo das auxinas, que possuem atividade hormonal estimuladora do crescimento de vegetais, mostra atividade sobre o metabolismo dos espermatozoides. O isolamento dessa substância abriu uma perspectiva de prolongamento da capacidade fecundante dos espermatozoides conservados sob refrigeração, por um período superior a 24 horas (NUNES, 1993).

SALGUEIRO et al. (2002) desenvolveram um diluente à base de coco, padronizado na forma de pó, permitindo a conservação das suas características benéficas e facilitando o seu uso em regiões onde não se dispõem do fruto.

3.6 TESTE HIPOSMÓTICO

Características espermáticas padrão (concentração, motilidade e morfologia) são freqüentemente insuficientes, por si só, para o diagnóstico da fertilidade/infertilidade, a não ser que individualmente sejam muito diferentes dos valores das normalidades para a espécie. A habilidade do teste hiposmótico (HOST) em avaliar a integridade funcional da membrana plasmática torna-o um teste complementar importante na avaliação *in vitro* do sêmen criopreservado, uma vez que tanto a criopreservação quanto o resfriamento podem levar a efeitos deletérios sobre a membrana. Os valores obtidos no teste HOST e a correlação entre esses e a motilidade espermática indicam que o espermatozóide responde ao estresse osmótico diferentemente da motilidade apresentada (MELO, 2005).

O teste hiposmótico (HOST), apresenta como princípio à observação de que um espermatozóide, com uma membrana celular íntegra se colocado em solução hiposmótica, permite a passagem da água pela membrana celular até o restabelecimento do equilíbrio osmótico entre os fluidos extras e intracelulares (SANTOS et al 2001). Este teste foi proposto inicialmente com a finalidade de avaliar a atividade bioquímica da membrana plasmática intacta em espermatozóides humanos e verifica-se que, com o influxo da água para o interior da célula, há um aumento do volume celular com formação de edema e posterior dobramento da cauda (JEYENDRAN et al., 1984).

O teste HOST apresenta importância ao avaliar sêmen que embora mostre bons resultados de motilidade e morfologia espermática, apresentam alterações de funcionalidade espermática em função de dano da membrana plasmática (MELO, 1999). Considera este autor que, apesar de ser um teste relativamente novo para avaliar a integridade funcional da membrana plasmática do espermatozóide, o HOST deve ser considerado como um indicador de fertilidade, já que a viabilidade da membrana é um requisito básico para que ocorra a fertilização.

Nos trabalhos iniciais desenvolvidos por JEYENDRAN et al. (1984), foram testadas soluções com osmolaridades que variaram de 50 a 300 mOsmol, obtendo os melhores índices de reação espermática ao teste ao utilizarem soluções a 150

mOsmol/L, ou menos. Da mesma forma os mesmos autores também testaram diferentes solutos (citrato de sódio, sucrose, melitose, frutose e cloreto de sódio) e associações entre eles, e verificaram que a taxa de reação espermática variava de acordo com a solução usada, dentro da mesma faixa de osmolaridade. Obtiveram os melhores resultados com a utilização da associação entre citrato de sódio (50%) e frutose (50%) a 150 mOsmol/L, incubada por 30 minutos a 37° C.

MELO (1999), utilizando o teste HOST para a espécie eqüina, observou que, independente do soluto utilizado, maiores taxas de reação ao teste são conseguidas utilizando soluções com 150 mOsmol/L a 50 mOsmol/L, mantendo as amostras por 30 minutos, a 37° C. observaram que nessa faixa de osmolaridade também foram menores as oscilações.

FONSECA et al., (2001) estudando o teste HOST na espécie caprina utilizaram uma solução hiposmótica contendo citrato de soído (50%) e frutose (50%) em água destilada e testaram osmolaridades que variavam de 50 a 300 mOsmol, verificando que a maior percentagem de espermatozóides reativos ao teste e com um maior grau de reação (dobramento de cauda e edema) foi encontrada em solução hiposmótica a 125 e 150 mOsmol/L.

SANTOS et al., (2001) também encontraram bons resultados, trabalhando com essa mesma combinação de solutos, a 60 mOsmol. Esses autores, porém, trabalharam com um tempo de incubação de 60 minutos, a 37° C. Esse tempo é superior ao preconizado por CAIZA DE LA CUEVA et al. (1997), e citam que o tempo ideal para que ocorram as reações é de 20 a 30 minutos.

BITTENCOURT et al. (2005) comparando diversos crioprotetores no sêmen caprino e o uso do HOST, constataram que os grupos que utilizaram o etilenoglicol como crioprotetor (etileno e etileno+EDTA) foram os mais eficazes em promover a manutenção da integridade morfofuncional da membrana dos espermatozóides caprinos criopreservados. O teste hiposmótico mostrou ser um método eficiente para avaliação da viabilidade da membrana espermática dos caprinos, citando ainda que é necessário o desenvolvimento de novos estudos para a padronização da técnica, com a confirmação dos melhores solutos e da melhor osmolaridade a serem empregados para essa espécie.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Reprodução Animal, localizado no Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, no período de 18 de agosto a 10 de setembro de 2008. Foram utilizados dois (02) reprodutores caprinos da raça Moxotó, fazendo-se 04 coletas de cada animal, com idade estimada entre 12 e 24 meses, fertilidade comprovada e ausência de enfermidades reprodutivas.

4.1 Escolha dos Reprodutores

Os reprodutores foram selecionados do próprio rebanho da instituição, por se apresentarem dentro dos padrões racial e etário exigidos, e classificados como aptos após realização de exame andrológico minucioso. Neste exame, além do estado clínico geral do animal, foi avaliado o sistema genital, verificando-se a presença, as dimensões, a simetria, a consistência e a mobilidade dos componentes do sistema, bem como sua compatibilidade com a idade, com o desenvolvimento e com a raça do animal. Verificou-se também o histórico e comportamento sexual do animal e, por fim, foi feito o espermiograma para avaliação das características físicas e morfológicas.

4.2 Coleta e Avaliação do Sêmen

O sêmen foi coletado por meio de eletroejaculação, imediatamente colocado em banho-maria a 37° C, enquanto o ejaculado era avaliado por suas características macroscópicas (volume, cor e aspecto), e uma pequena amostra foi retirada para estudo das características microscópicas (turbilhonamento, motilidade individual progressiva, vigor, concentração espermática e morfologia). Logo após a coleta foi observado, o turbilhonamento, em microscópio óptico com objetiva de 5x, e classificado entre 0 e 5; a motilidade progressiva, foi feita colocando-se uma lamínula sobre a lâmina e observando em objetiva de 10x, considerou-se uma escala de 0 a 100%; e o vigor também na objetiva de 10x e classificado entre zero e cinco.

Em seguida, uma alíquota do sêmen (20µL) é diluída em 2 ml de formol citrato numa concentração de 1:400, para avaliação da concentração espermática em câmara de Neubauer, e da morfologia espermática em preparação úmida (uma gota de sêmen em lâmina sob lamínula), em microscopia de contraste de fase, com objetiva de imersão contando 200 células.

Foram utilizados apenas ejaculados com volume mínimo de 0,5 ml de sêmen, motilidade progressiva maior ou igual a 75% e vigor maior ou igual a 2.

Avaliadas as características macro e microscópicas, a etapa seguinte foi o resfriamento do sêmen. A diluição do ejaculado foi feita em diluente à base de água de coco em pó na proporção de 1:9 (sêmen e diluente respectivamente). Depois de diluído, o sêmen foi colocado na geladeira numa temperatura média de 5° C para conservação. A avaliação quanto às características de motilidade, vigor e a realização do teste HOST foram feitas 12, 24 e 48 horas após o horário da coleta.

4.3 Realização do Teste Hiposmótico

Foram analisadas quatro coletas de sêmen resfriado por cada reprodutor, sendo que de cada coleta, foram colhidas alíquotas de 20 µL de sêmen diluído e colocadas em tubos Ependorf, dois deles contendo 1 ml de solução citrato de sódio 50% e frutose 50% com osmolaridade 150 mOsmol/L e 300 mOsmol/L respectivamente, e um terceiro contendo 1 ml de água destilada, contabilizando as soluções A, B e C para cada reprodutor.

A avaliação das amostras foi realizada através da colocação de 20 µL de cada uma das soluções, com o uso de pipeta, entre lâmina e lamínula, para contagem de 100 células em microscopia de contraste de fase na objetiva de imersão.

A classificação das células foi feita observando-se a presença ou não de dobramento na cauda dos espermatozóides, segundo descrito por KUMI-DIAKA (1993). O cálculo do número de espermatozóides reativos ao teste hiposmótico (HO) foi realizado utilizando-se a fórmula citada por MELO (1999), onde $HO\% = (\% \text{ de alterações na região da cauda após o teste HOST}) - (\% \text{ de alterações na região da cauda antes do teste HOST})$. Todas as alterações de cauda, associadas ou não a defeitos de outra região do espermatozóide, foram contabilizadas antes e depois do teste HOST.

Na análise estatística dos dados avaliados foi utilizado o pacote estatístico InStat 3. A consistência dos dados e análise descritiva (médias e desvio padrão) das características de interesse ao estudo foi realizada mediante o emprego dos testes de Tukey (paramétrico) e o de Kruskal – Wallis (não paramétrico).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 01. Motilidade individual progressiva de espermatozóides de caprinos da raça Moxotó, submetidos à diluição com água de coco em pó. Patos, 2008.

Horário	N	Médias \pm desvio
Fresco (0 hora)	8	80 \pm 5,97 a
12 horas	8	61,87 \pm 18,88 b
24 horas	8	47,50 \pm 26,72 b
48 horas	8	28,12 \pm 23,89 c

F/ 12= P< 0,05, F/24= P< 0,001,F/48= P< 0,001, 12/24= P< 0,05, 12/48= P< 0,05, 24/48 = 0,05.

Verifica-se na Tabela 01 que a motilidade individual progressiva do sêmen fresco foi superior á observada nos momentos com 12 h. (P<0.05), 24 h (P< 0.001) e 48 h (P< 0.001), já entre os momentos 12 e 24 horas não houve variação e entre estes momentos e 48 horas houve uma diferença significativa (P< 0.05). Pode-se verificar a sensível redução da motilidade a partir das 24 horas de conservação. Aqui deve se considerar as observações de SILVA (1993) onde afirma que a motilidade com valores acima de 50% com sêmen refrigerado oferecem resultados satisfatórios de fertilidade, uma vez que a população espermática é maior que aquela utilizada no sêmen congelado e as células não sofreram o impacto do processo de congelamento e descongelamento. Os valores obtidos nos momentos 24 e 48 horas, 47.50% e 28.12%, respectivamente, são valores questionáveis no intuito de obter índices de fertilidade satisfatórios.

Tanto a motilidade individual progressiva e o vigor dos espermatozóides são importantes parâmetros na avaliação da potencialidade da fertilidade, conforme proposto por WEITZE (2001), já que em condições normais somente os espermatozóides com movimento retilíneo e vigoroso batimento de cauda conseguem ultrapassar a cérvix e a junção útero-tubárica e atingir o local da fecundação no oviduto e penetrar as diversas camadas do *cumulus oophorus* e da

zona pelúcida, torna-se fundamental a análise deste parâmetro nos trabalhos de comparação de diluente, tempo de equilíbrio, e outros procedimentos que representem as características metabólicas das células, seja *in vitro* ou envolvendo teste de fertilidade a campo (WEITZE, 2001).

ANDRADE (2007) trabalhando com carneiros verificou o mesmo comportamento nos tempos de conservação no uso dos diluentes a base de leite desnatado e tris-gema.

Tabela 02. Vigor de espermatozóides de caprinos da raça Moxotó, submetidos à diluição com água de coco em pó. Patos, 2008.

Horário	N	Médias \pm desvio
Fresco (0 hora)	8	3,0 \pm 0,92 a
12 horas	8	2,12 \pm 0,83 ac
24 horas	8	1,87 \pm 0,99 ac
48 horas	8	1,37 \pm 0,74 bc

Médias com letras diferentes variam significativamente ao nível de ($P < 0,05$).

A tabela 2 mostra os valores do vigor espermático, aqui se observa que não houve diferença entre o sêmen fresco e os momentos 12 e 24 horas, já ao comparar com o momento 48 h, verifica-se variação significativa ($P < 0,05$). ANDRADE (2007) observou diminuição do vigor nos mesmos períodos usando os diluentes de leite desnatado e tris-gema no sêmen ovino.

A potencialidade do uso do sêmen refrigerado com manutenção da viabilidade em até 48 horas representa uma alternativa no uso sistemático da inseminação artificial em caprino, pois apesar das limitações de tempo de conservação, seu uso pode ser expandido sem enfrentar as limitações inerentes ao uso do sêmen congelado, tais como necessidade do uso da laparoscopia e os índices de fertilidade sensivelmente inferiores na inseminação cervical na cabra, conforme foi constatado por MENCHACA et al. (2005), que obtiveram bons resultados de inseminação com sêmen refrigerado por 12 h a 5°C e MILCZEWSKI et al. (2000) com manutenção por 8 horas. Os resultados aqui apresentados com manutenção da motilidade até 12

horas devem ser analisados com reserva , uma vez que na prática tem sido observados índices de fertilidade satisfatórios usando sêmen diluído em água de coco e outros diluentes. Os resultados aqui mostrados podem ser resultado do número reduzido de reprodutores.

Tabela 03. Reação ao teste hiposmótico de sêmen caprino diluído em água de coco em pó, utilizando três soluções nos tempos 12, 24 e 48 horas de refrigeração a 5°C.

Horário	A	B	C
12	41,4 ± 3,91	40,20 ± 4,76	43,40 ± 4,98 a
24	52,16 ± 6.67	52,16 ± 10,,36	63,83 ± 7,46 b**
48	57 ± 11,04	55,50 ± 12,64	58,66 ± 5,42 ab*

Letras diferentes nas colunas apresentam diferenças significativas.

* = (P < 0,05)

** = (P < 0,01)

Na tabela 3 são apresentados os valores médios das alterações da cauda que reagiram ao teste hiposmótico. Verifica-se que ao comparar as soluções 1 2 e 3 nos tempos de 12, 24 e 48 horas não foi verificada nenhuma diferença estatística, o que sugere que a avaliação da integridade plasmática pode ser realizada utilizando as referidas soluções com osmolaridades de 150 e 300 mOsmol/L e água destilada sem alterar os resultados das patologias de cauda que reagiram ao teste hiposmótico.

Estes resultados mostraram que com o aumento do tempo de conservação nas soluções com 150 e 300 mOsmol/L não houve diferenças nas alterações de cauda , evidenciando a preservação da integridade da membrana plasmática mesmo com o aumento do período de conservação. Isto nos leva a sugerir que estas soluções são satisfatórias para a análise da reação hiposmótica. Já o uso de água destilada apresentou variações entre os momentos 12 horas e 24 e 48 horas. Chama a atenção que os valores do tempo 24 horas diferiram das 12 horas. Estes

resultados tornam-se contraditórios á esperada resposta fisiológica, já que, a medida que o tempo de conservação aumenta, espera-se que haja um percentual maior de dano da membrana plasmática, isto é, menos células reagiriam ao teste hiposmótico. Estas variações nos levam a sugerir o uso das soluções com 150 e 300 mOsmol/L.

O referido teste apresenta como principio a observação de que um espermatozóide, com uma membrana celular íntegra, se colocado em solução hiposmótica, permite a passagem da água pela membrana celular até o restabelecimento do equilíbrio osmótico entre os fluidos extra e intracelulares (SANTOS et al., 2001). Este teste apresentou uma boa resposta da avaliação da integridade da membrana plasmática das células espermáticas, conforme foi relatado por HOFMANN (2003), BUSCH e WABERSKI (2007). O uso da conservação do sêmen a 5°C tem sido amplamente utilizada com resultados satisfatórios (MAXWELL, & WATSON, 1996). O interesse neste trabalho foi associá-lo com a reação do teste hiposmótico das células espermáticas e o uso de diluente a base de água de coco em pó.

A constatação que à medida que aumenta o tempo de conservação não aumentou o percentual de células que não reagem ao teste hiposmótico leva a relacionar a manutenção da integridade da membrana plasmática ao passo que aumenta sua conservação no sêmen refrigerado a 5°C nos períodos de 12, 24 e 48 horas pós-diluição e refrigeração, isto assume importância já que fica evidente que a diminuição da fertilidade que pode-se observar no uso de sêmen conservado em diferentes períodos relaciona-se mais com a diminuição da motilidade e o vigor do que com os danos que a membrana plasmática pode sofrer nessa conservação.

Em outras espécies, o teste foi utilizado de forma satisfatória na predição da fertilidade de sêmen *in vitro* e sua relação com os resultados de fertilidade a campo ou na avaliação das diferentes concentrações de osmolaridades, conforme mostraram PÉREZ-LLANO et al. (2001) com sêmen de suínos, NIE & WENZEL (2005) com sêmen de garanhão, ALVES et al. (2004) no garanhão, FONSECA et.al. (2005), que testaram diferentes concentrações. Em ovinos, OBERST et. al. (2003) obtiveram resultados semelhantes aos descritos neste trabalho; assim como JEYENDRAN et al. (1994), na espécie humana e KUMI-DIAKA (1993), em cães. Já ROTA et al. (2000), estudando o teste hiposmótico em bovinos não encontraram correlação com a fertilidade a campo. Isto demonstra a necessidade de serem

testados resultados *in vitro* com trabalhos a campo utilizando sêmen com diferentes diluidores na espécie caprina.

6. CONCLUSÕES

1 - O uso do diluente a base de água de coco em pó no sêmen caprino apresentou melhores resultados quando conservado até 24 horas ; já o vigor não apresentou variações pós-diluição no período até 48horas.

2 - O uso das soluções com 150 e 300 mOsMol/L mostraram que não houve variações nos períodos até 48 horas, sugerindo o uso das mesmas na avaliação da integridade da membrana plasmática.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, S.G.G.; SNOECK, P.P.N.; RIBEIRO FILHO, A. de L.; BITTENCOURT, R.F.; PORTELA, A.P.M.; MELO, M.I.V.; HENRY, M. *Effects of solution, incubation time and sperm fixation on equine cryopreserved sperm cells submitted to the hyposmotic swelling test*. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15, Porto Seguro, Brasil. Abstracts... Belo Horizonte: CBRA, 2004. p. 508.

ANDRADE, A.K.G. Utilização do teste hiposmótico na avaliação de sêmen ovino refrigerado utilizando diluentes a base de Tris-gema e leite desnatado. Patos, 2006.

BITTENCOURT, R.F., Utilização do teste hiposmótico para avaliar a eficácia de diferentes protocolos de criopreservação do sêmen caprino. Vol. 6, No 3, 2005.

BUSCH, W.; WABWERSKY, D. Künstliche Besamung bei Haus-und Nutztieren Stuttgart: Schattauer, 2007. 320p.

FONSECA, J.F.; TORRES, C.A.A.; ROVAY, H.; BORGES, A.M.; BARBOSA, L.P.; MAFFILI, V.V; FRAGA, D.B.M. *Hypoosmotic swelling test in goat spermatozoa*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 25, n. 3, p. 436-457, 2001.

GETTY, R.; Anatomia dos Animais Domésticos. 5 ed. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 1986, pág. 139.

GRANADOS, L. B. C.; DIAS, A. J. B.; SALES, M. P.; Aspectos Gerais da Reprodução de Caprinos e Ovinos, 1ª edição, Campos dos Goytacazes, RJ, 2006.

HOFFMANN, B. Andrologie (physiologie, pathologie und biotechnologie der männlichen fortpflanzung, Lehmanns media, Berlin, 122p. 2003.

IBGE. *Pesquisa da Pecuária Municipal* - 2005. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 29 de agosto 2008.

JEYENDRAN, R.S.; VAN DER VEN H.H., PEREZ-PELAEZ, M.; CRABO, B.G.; ZANEVELD, L J. *Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics*. Journal Reproduction Fertility, v. 70, p. 219-228, 1984.

KUMI-DIAKA, J. *Subjecting canine semen to the hypo-osmotic test*. Theriogenology, v. 39, p. 1279- 1289, 1993.

MACHADO, R.; SIMPLICIO, A. A. Inseminação Artificial em Caprinos no Brasil: Estado Atual. Ver. Bras. Reprod. Anim., v. 19, n- 1 –2, p. 61 – 72, 1995.

MAXWELL, W.M.C; WATSON, P.F. Recent progress in the preservation of ram semen, Anim. Reprod. Sci. 42 ,p. 55–65, 1996.

MELO, M. I. V.; HENRY, M.; BEKER, A. R. C. L.; Teste Hiposmótico Para Avaliação do Sêmen Eqüino Resfriado com Diferentes Diluentes. Arq. Brás. Méd. Zootec. V.57, n 6, p. 757 – 763, 2005.

MELO, M.I.V. de. *Teste hiposmótico na avaliação do sêmen eqüino*. 1999. 67p. Tese (Doutorado em Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

MENCHACA, A, A. PINCZAK², D. QUEIROLO². Storage of ram semen at 5 °C: effects of preservation period and timed artificial insemination on pregnancy rate in ewes Anim. Reprod., v.2, n.3, p.195-198, Jul./Sept. 2005.

MILCZEWSKI, V.; KOZICKI, L.E.; LUZ, S.L.N.; NEVES, J.P. Inseminação Artificial Intrauterina E Cervical Em Ovelhas Utilizando Sêmen Refrigerado ARCHIVES OF VETERINARY SCIENCE v.5, p.35-39, 2000.

NIE, G.J.; WENZEL, G. Adaptation of the hypoosmotic swelling test to assess functional integrity of stallion spermatozoal plasma membranes Anim. Reprod., v.2, n.3, p.195-198, Jul./Sept. 2005.

NUNES, J. F.; El agua de coco como diluidor del semen caprino. Rev. Cient., v. 3, n – 1, p. 45 – 51, 1993.

NUNES, J. F., SALLES, F. G. M. El agua de coco (*Cocus nucifera* L.) “in natura”, integral y adicionada com citoquininas, como diluidor de semen caprino. Rev. Cient., v.3, p.273-281, 1993.

OBERST, E.R.; JOBIM, M.I.M.; MATTOS, R.C.; KROTH, E.; LARA, G. SMIDERIE, W.; BRONZATTO, M. *Teste hiposmótico e sua relação com outros métodos para avaliação da integridade da membrana plasmática do carneiro. Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 27, n. 3, p. 375-376, 2003.

PENA-ALFARO, C.E . *Apontamentos do Curso de Biotecnologias da Reprodução nos Animais Domésticos*. UFCG. Patos, 60 p. 2006.

PÉREZ-LLANO,B. LORENZO, J.L. YENES, A. TREJO,A.; P. GARCÍA-CASADO,C. A short hypoosmotic - swelling test for the prediction of boar sperm fertility. 2001, P 387-398.

REECE, W. O.; *Fisiologia dos Animais Domésticos*. 1º edição, Ed. Roca. São Paulo, 1996. pág. 260 – 278.

ROTA, A.; PENZO, N.; VINCENTI, L.; et al.. Hypoosmotic swelling (HOS) as a screening assay for testing in vitro fertility of bovine spermatozoa. *Theriogenology*, v. 53, p. 1415- 1420, 2000.

SALGUEIRO, C. C. M., NUNES, J. F., OLIVEIRA, K. L. P., et al. *Utilização de diluentes à base de água de coco in natura e em pó na inseminação artificial programada de cabras*. Rev. Bras. Reprod. Anim., Supl., n.5, p. 96-98, 2002.

SANTOS, A.D.F; TORRES, C.A.A.; FONSECA, J.F.; BORGES, A.M.; ROVAY, H.; GORETTI, R.G.; GUIMARÃES, J.D.; COSTA, E.P.; BARBOSA, L.P.; MAFFILI, V.V.; FRAGA, D.B.M. *Uso do teste hiposmótico (HOST) para avaliar a congelabilidade do sêmen de caprinos das raças Alpina e Saanen, jovens e adultos, submetidos ao manejo com luz artificial*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 25, n. 3, 2001.

SILVA, M.A.V.; Efeito de diferentes diluentes de congelamento e de duas temperaturas de descongelamento sobre a integridade acrossomica, vigor e motilidade espermática do sêmen caprino. 89p. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária). Universidade Federal Rural do Pernambuco, Recife. 1993.

SIQUEIRA, A. P.; Inseminação Artificial em Caprinos com Sêmen Resfriado. Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, 2006.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. Dukes. Fisiologia dos Animais Domésticos. 11 ed. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 1996.

TRALDI, A. S.; Biotécnicas Aplicadas em Reprodução de Pequenos Ruminantes. Departamento de Reprodução Animal, FMVZ/USP, Pirassununga, SP, 2006.

WEITZE, K.F. Spermatologische Untersuchung in: Busch, W.; Holzmann, A. Veterinärmedizinische Andrologie. Stuttgart: Schattauer, 2001. 561p.

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CAMPUS DE PATOS - UFCG

B333a
2008

. Batista, Lucas Bastos

Avaliação de sêmen caprino diluído em água de coco em pó e mantido sob
refrigeração / Lucas Bastos Batista – Patos: CSTR/UFCG, 2008.

34 p.: il.

Inclui bibliografia.

Orientador (a): Carlos Enrique Peña Alfaro.

Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro de Saúde e
Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1 – Reprodução - caprinos – Monografia. I - Título

CDU: 636.082.4:636.3