

Tabela 1: Média e desvio padrão das características seminais de 48 amostras de sêmen canino a fresco

Parâmetros	Valores (média ± dp*)	Valores máximo e mínimo
Volume 2ª fração (mL)	2,4 ± 1,4	0,6 a 5,5
Concentração (n° spzt x 10 ⁶ /mL)	501,6 ± 351	0 a 1416
Motilidade (%)	85,4 ± 23,4	0 a 100
Vigor (0 a 5)	4,0 ± 1,2	0 a 5
% de espermatozoides vivos	91,1 ± 16,8	20 a 100
% de alterações morfológicas totais	21,3 ± 12,1	5 a 47
% de alterações primárias	1,6 ± 2,7	0 a 14
% de alterações secundárias	19,7 ± 12,4	5 a 44

* dp:desvio padrão

A partir dos 48 dados de CE mensurados na câmara de Neubauer e seus valores de tramitância correspondentes obtidos por espectrofotometria, foi determinada a seguinte equação $Y=89,466 - 0,03X$, onde Y corresponde à tramitância e X à concentração espermática, expressa em número de espermatozoides x 10⁶ por mL. O valor de tramitância máximo de 90 e o mínimo de 45 observados por espectrofotometria, corresponderam a uma concentração de 0 e 1482 milhões de espermatozoides por mL, respectivamente. A correlação entre a tramitância e a concentração espermática foi significativa ($p < 0,0001$), apresentando um coeficiente $r = 0,808$ (80,8%).

Em diferentes espécies, diversos métodos são estudados visando tornar mais prática a avaliação da CE, devido à pouca praticidade das câmaras de contagem celular. Na espécie canina, Cortez et al. (2001) verificaram a existência de 98% de correlação entre a CE e o espermátócrito obtido através de centrifuga clínica. Por outro lado, Cortez et al. (2002) avaliaram a mensuração do perímetro escrotal, mas observaram que esta característica apresentou uma baixa correlação (10%) com a CE, mostrando que tal método não é adequado para sua determinação.

Com relação à espectrofotometria, os resultados obtidos no presente trabalho, sugerem que esta técnica possibilita de maneira prática e segura a determinação da CE do sêmen canino. Mas vale ressaltar

que este método tem a desvantagem de requerer um equipamento de alto custo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORTEZ, A.A., AQUINO-CORTEZ, A., CARDOSO, R.C.S., COSTA FILHO, J.C., PEREIRA, B.S., SILVA, L.D.M. Determinação da concentração espermática canina por espermátócrito em centrifuga clínica. *Ciência Animal*, v.11 n.2, p.95-97, 2001
- CORTEZ, A.A., AQUINO-CORTEZ, A., SILVA, A.R., CARDOSO, R.C.S., SILVA, L.D.M. Relação entre perímetro escrotal e concentração espermática em cães, clinicamente normais, da raça Pastor Alemão. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.54, n.5, p.549-550, 2002.
- FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. *Canine and feline endocrinology and reproduction*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996, 785p.
- NUNES, J. F., SALGUEIRO, C.C.M. Utilização da água de coco como diluidor do sêmen de caprinos e ovinos. *Rev. Cient. Prod. Animal*, v.1, p.17-26, 1999.
- NUNES, J.F. SALGUEIRO, C.C.M. Avaliação clínico-andrológica de pequenos ruminantes. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Suppl. 5, p.30-33, 2002.
- SEAGER, S.W.J., PLATZ, C.C. Collection and evaluation of canine semen. *Vet. Clin. Nor. Amer.* v.7, n.4, p. 765-773, 1977.

Utilização de técnicas de coloração para identificação da morfologia acrossomal em espermatozoides de emas (*Rhea americana*)

(Evaluation of acrosome morphology in rhea's (*Rhea americana*) spermatozoa using staining techniques)

Góes, P.A.A.; Cavalcante, A.K.S.; Almeida, M.A.; Zacariotti, R.L.; Hatamoto, L.K.; Mantovani, A.P., Nichi, M.; Barnabe, V.H

Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil, fone/fax: (55 11) 3091-7412, e-mail: pgoes@usp.br

RESUMO

A ema (*Rhea americana*) é uma ave silvestre do Brasil. A reprodução dessa espécie em cativeiro tem sido feita através de monta natural. A taxa de fertilidade média no Brasil está abaixo de 50%, em decorrência do pouco uso de biotecnologias nessa espécie. Considerando a importância comercial desse animal, é extremamente relevante padronizar algumas técnicas

como coleta e congelamento de sêmen e inseminação artificial. Neste estudo, utilizou-se 5 machos adultos em atividade reprodutiva. A coleta de sêmen foi realizada por massagem digital. Esfregaços foram feitos e corados por três métodos diferentes para verificar qual poderia melhor identificar o acrossoma. Apenas no Método fast-green/rosa bengala rosa o acrossoma foi visualizado.

PALAVRAS CHAVE: Ema, Acrossoma, Coloração.

ABSTRACT

The Rhea (*Rhea americana*) is a wild endangered specie in Brazil. The reproduction in captivity of these species has been done through natural mount. The index of average fertility in Brazil is lower than 50%, because the lack of modern biotechnologies applied to this specie. Considering the commercial significance of this animal, it is extremely relevant to standardize some techniques such as semen collection and freezing and artificial insemination. In this study, we used 5 adult males in reproductive activity. Semen collection was made a digital pressure. Smear was done and stained by three different methods to verify which one could determine the best acrosomal identification. Only in the fast-green/rose bengal Method the acrosome was visualized.

KEY WORD: Rhea, Semen, Stain.

INTRODUÇÃO

A ema é uma ave silvestre (*Rhea americana*) pertence ao grupo das ratitas, considerada a maior ave brasileira e encontra-se em vias de extinção (De Cicco, 2001). Apesar do crescente investimento de recursos na criação de emas, como pecuária alternativa, ainda são escassas as informações relativas ao manejo e comportamento reprodutivo desses animais. Atualmente, a reprodução de emas em cativeiro vem sendo feita através da monta natural, controlada ou não. No Brasil, devido a ausência de tecnologia aplicada, a taxa de fertilidade média está abaixo de 50% (GIANONNI, 1996). HICKS-ALLDREDGE (1996) afirma que, muitas vezes, o responsável pelos baixos níveis de fertilidade é o macho, principalmente porque ainda não se tem dados à respeito da qualidade reprodutiva deste. Uma alternativa é o uso racional de reprodutores selecionados e concomitante uso de biotécnicas, priorizando a inseminação artificial. Um outro problema das ratitas é o nível relativamente baixo de diversidade genética, segundo LANE (1995). O Brasil, por ser o país com maior número de subespécies e de populações naturais (GIANNONI, 1996), poderia contribuir neste processo com a comercialização de sêmen. BARNABE *et al.*, coletaram sêmen de emas através do método de massagem digital demonstrando alguns parâmetros seminais como: volume, motilidade, concentração e alterações morfológicas. No presente trabalho três colorações distintas (Williams, Panótico Rápido e *Fast-green/rosa bengala*) são utilizadas para verificar qual a melhor coloração na identificação da morfologia acrossomal de espermatozoides de emas.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi realizado no município de Sarapuí-SP, utilizando-se 5 machos adultos em estação reprodutiva. Para as coletas, utilizou-se uma caixa de contenção de madeira. O sêmen foi coletado através de massagem digital e imediatamente analisado quanto ao volume e motilidade para posterior seleção do material a ser corado. Esfregaços de sêmen foram corados

pelos métodos de Williams (MIES FILHO, 1987), (*Fast Green/Rosa Bengala* (POPE *et al.*, 1991) Panótico Rápido⁵ (segundo fabricante), em seguida foram analisados sob microscopia de luz, num aumento de 100, 400 e 1000x (Dialux 20[®]/Leitz). Os resultados foram obtidos através da visualização ou não do acrossoma corado de acordo com as técnicas utilizadas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As colorações utilizadas foram adequadas para a identificação das células espermáticas contidas nos esfregaços que apresentaram-se como uma estrutura cilíndrica dividida em cabeça, peça intermediária e cauda. Nas colorações Williams e Panótico Rápido não foi possível identificar o acrossoma, porém a coloração pelo método de Williams demonstrou mais clareza e nitidez para a observação da morfologia espermática. Através da coloração *Fast Green/Rosa Bengala* foi possível identificar a morfologia acrossomal. Os acrossomas identificados foram evidenciados através de uma cor violácea, diferenciando-o do restante da cabeça. Os acrossomas corados e não corados através da técnica de coloração *Fast Green/Rosa Bengala* sugerem a integridade ou não da membrana acrossomal, como já descrito na literatura em mamíferos (POPE *et al.*, 1991).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARNABE, V.H.; GÓES, P.A.A.; ZÜGE, R.M.; CELEGHINI, E.C.C.; ROMITTO, G.C.; PAZ, R.C.R.; CAVALCANTE, A.K.S.; BARNABE, R.C.; NICHÍ, M.; GIANNONI, M.L. Reproductive parameters evaluation in Rhea (*Rhea americana*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 28, 2001, Salvador. **Anais...** Salvador: Impressora Rocha, 2001. Abstract, p.249.
- DE CICCO, L.H.S. Ema. Ela é criada pelo pai. **Saúde animal**. Disponível em: http://www.saudeanimal.com.br/extinto_25.htm. Acesso em: 31 de jan. 2001.
- GIANNONI, M. L. **Emas e Avestruzes - uma alternativa para o produtor rural**. Jaboticabal, SP.: FUNEP, 1996. 49p.
- HICKS-ALLDREDGE, K. D. Ratite reproduction. In: TULLY, T. N.; SHANE, S. M. **Ratite - Management, Medicine, and Surgery**. Malabar, FL.: Krieger Publishing Company, 1996. 188p.
- LANE, R. Selecting your best ratites. **Canadian Ostrich**. 4 (2): 16-18, 1995.
- MIES FILHO, A. **Inseminação Artificial**. 6 Ed., Sulina: Porto Alegre, p.447, 750 p. 1987.
- POPE, C. E., ZHANG, Y. Z., DRESSER, B. L. A simple staining method for evaluating acrosomal status of cat spermatozoa. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, 22(1): 87-95, 1991.

⁵ Laborclin, Pinhais-PR