

## Comparação entre dois métodos de congelação de sémen de carneiros Merino Regional e Serra da Estrela ao longo do ano

J. P. Barbas, M.C. Baptista, A.E.M. Horta

*Departamento de Reprodução Animal, Estação Zootécnica Nacional – INIA,  
2000-763 Vale de Santarém*

Neste trabalho compararam-se dois métodos de congelação, A e B, sendo o sémen refrigerado (+ 4°C) introduzido no biocongelador, respectivamente às temperaturas de -110°C (A) e -145°C (B). No método A, o sémen é arrefecido de + 4°C a -90°C (rampa 1: 47°C/min), e de -90 °C a -140 °C (rampa 2: 5°C/min). No método B, o sémen é arrefecido de + 4 °C a -110°C (rampa 1: 57 °C/min) e de -110°C a -180°C (rampa 2: 2,3°C/min). O sémen é retirado do biocongelador a -140°C (A) ou a -180 °C (B), sendo imerso de seguida em azoto líquido. Foram avaliados os efeitos dos dois métodos de congelação sobre as características seminais (mobilidade individual - MI); % de espermatozóides vivos (% spz vivos) e % de espermatozóides normais (% spz normais), no sémen descongelado (SD) em 4 carneiros, 2 de raça Serra da Estrela (SE) e 2 de raça Merino Regional (MR), procurando detectar a melhor época de congelação. Avaliaram-se as diferenças entre os dois métodos para as quebras ocorridas relativamente ao sémen fresco (SF) e compararam-se os resultados do SF vs SD no método B. O sémen foi colhido quinzenalmente usando o método da vagina artificial, tendo sido recolhidos 218 ejaculados (Jul/1999 – Jan/2002) que se organizaram por épocas do ano. Congelaram-se 119 ejaculados (A) e 99 (B). Os efeitos Carneiro, Raça, e Época do ano foram avaliados no SD (A e B) para as variáveis MI, % spz vivos e % spz normais, e identificada a interacção época x raça no método A. Estudaram-se as interacções época x método e época x raça para a MI e % de spz vivos, ao comparar os métodos de congelação. Correlacionaram-se as variáveis do SF e do SD no método B.

O método de congelação interagiu com a época sobre a MI ( $P < 0.00001$ ) e % spz vivos ( $P < 0.0004$ ). No SD (A) a época e a raça interagiram em relação à MI ( $P < 0,06$ ) e à % de spz vivos ( $P < 0,01$ ). A mesma interacção sobre a MI ( $P = 0,075$ ) e % de spz vivos ( $P < 0,026$ ), persistiu quando SD (A) e SD (B) se confundiram no modelo. A % de spz normais no SD (A) variou entre épocas ( $P < 0,001$ ) tendo o Verão e o Outono resultados superiores.. No SD (B) a MI, a % de spz vivos e a % de spz normais variaram entre épocas, sendo o Verão e o Outono superiores para a MI e % de spz vivos. A MI ( $44\% \pm 9,3$  vs.  $25,8\% \pm 10,2$ ) e a % de spz vivos ( $54,3 \pm 8,9$  vs  $35,7 \pm 11,7$ ) foram significativamente superiores no SD do método B vs. o SD do método A ( $P < 0,001$ ). Quando comparados os dois métodos (A vs. B), relativamente ao SF verificou-se existirem mais perdas no método A para a MI ( $-47,5\%$  vs  $-23,8\%$ ) e % spz vivos ( $-39,6$  vs.  $-19,1$ ), não havendo diferenças relativamente à % de spz normais ( $-6,96$  vs.  $-7,93$ ;  $P > 0,05$ ). Nos dois métodos houve uma diminuição da qualidade relativamente ao SF, em todas as variáveis consideradas após descongelação. No método B, a MI ( $r = 0,50$ ), a % de spz vivos ( $r = 0,26$ ) e a % de spz normais ( $r = 0,79$ ) apresentaram correlações positivas e significativas ( $P < 0,01$ ) entre o SF e o SD. Ainda no método B, a MI ( $67,83 \pm 6,09$  % vs  $44,03 \pm 9,34$  %), a % de spz vivos ( $73,48 \pm 8,75$  vs  $54,21 \pm 8,9$ ) e a % de spz normais ( $79,74 \pm 8,7$  vs  $71,96 \pm 11,39$ ), foram superiores no SF vs. SD ( $P < 0,001$ ). Encontrou-se ainda (B) uma interacção entre a estação do ano e o tipo de sémen (SF ou SD) sobre a MI ( $P < 0,01$ ).

Estes resultados mostram que o método B foi superior ao A, sendo o Outono a época ideal para obtenção de sémen de melhor qualidade. Deve evitar-se a congelação de sémen durante o Inverno, pois é a época que mais compromete a MI.

## Comparison of two freezing methods for Merino Regional and Serra da Estrela ram semen

J. P. Barbas, M.C. Baptista, A.E.M. Horta

*Departamento de Reprodução Animal, Estação Zootécnica Nacional – INIA,  
2000-763 Vale de Santarém*

Two freezing methods for ram semen were compared. Refrigerated semen (+4°C) was introduced in a biocamera at -110°C (A) or -145°C (B). Semen in method A, was cooled from 4°C to -90°C (ramp 1: 47°C/min) and from -90°C to -140°C (ramp 2: 5°C/min) before plunging it into liquid N<sub>2</sub>. Method B consisted of cooling semen from 4°C to -110°C (ramp 1: 57°C/min) and from -110°C to -180°C (ramp 2: 2.3°C/min), before LN<sub>2</sub> immersion. Sperm motility (M), live (L) spermatozoa (spz) and normal (N) spz were compared between fresh (FS) and thawed (TS) semen in both methods, seeking for the best freezing season. Two Serra da Estrela and 2 Merino Regional rams were used as semen donors fortnightly from July/99 to Jan/2002, producing 218 ejaculates that were frozen (A= 119; B=99). Losses occurring from FS to TS were compared between both methods, and FS vs. TS results were compared in method B. Ram x breed x season effects were evaluated in TS (methods A & B) for M, L and N spz. Variables from FS and TS (B) were correlated.

The freezing method interacted with season on M (P<0.00001) and L (P<0.0004) spz results. An interaction between season x breed was identified in TS (A) concerning M (P<0.06) and L (P<0.01) spz. The same interaction persisted when both methods were confounded (M: P<0.075; L: P<0.026). In TS (A), normal spz rates were higher in summer and autumn (P<0.001). In TS (B), M, L and N spz rates were different among seasons, M and L spz rates being higher in summer and autumn. Higher values (P<0.001) in SD (B) vs. SD (A) were observed in M (44% ± 9.3 vs. 25.8% ± 10.2) and L (54.3% ± 8.9 vs 35.7% ± 11.7) spz. When A vs. B were compared concerning losses from FS to TS, M (-47.5% vs -23.8%) and L (-39.6 vs. -19.1) spz, presented higher losses in method A, and no differences were found in N spz (-6.96 vs. -7.93; P>0.05). In both methods TS quality significantly decreased from FS in all parameters. Significant correlations were found between FS and TS (B) for M (r=0.50), L (r=0.26) and N (r=0.79) spz. Higher values in SF vs. TS (B) for M (67.83% ± 6.09 vs 44.03% ± 9.34), L (73.48% ± 8.75 vs 54.21% ± 8.9) and N (79.74% ± 8.7 vs 71.96% ± 11.39) spz, were even detected. Further, a significant interaction season x semen condition (FS or TS) on motility was found (P<0.01)

These results show that B was better than A freezing method, autumn being the best season for achieving good quality frozen semen. Freezing of ovine semen should be avoided during winter season.