

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS DO SÊMEN EQUINO REDILUIDO EM CRIOPROTETOR PÓS-DESCONGELAÇÃO

(Analyses of the kinetics parameters of the defrozed equine semen resuspended in cryoprotectant)

Maria Eduarda Magalhães de SOUZA^{1*}; Juliana Gomes VASCONCELOS¹; Kissya Ellen Alves da SILVA¹; Antônio Carlos de Albuquerque Teles FILHO²

¹Universidade Estadual do Ceará (UECE), Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza-Ce. CEP: 60.740-000; ²Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici.

*Email: esouza.medvet@gmail.com

ABSTRACT

Considering the limitations of the use of frozen sperm in equine reproduction, this study aimed to analyze the motility parameters of equine defrozed semen which was resuspended in cryoprotectant. There were five semen collections using artificial vagina. Each one of this was submitted to standard cryopreservation protocol. The straws were defrozed and immediately analyzed. After that, the semen was resuspended in cryoprotectant and reanalyzed after 5 min. The motility parameters (total and progressive) as the vigor do not present significant differences.

Key words: equine, reproduction, sperm.

INTRODUÇÃO

A equinocultura vem crescendo no mercado brasileiro, gerando milhares de empregos e movimentando bilhões de reais (LIMA e CINTRA, 2016). A utilização de biotécnicas aplicadas à reprodução é importante não apenas para aumentar a produção e valorizar o melhoramento genético em si, mas também minimiza a disseminação de doenças transmissíveis, elimina barreiras geográficas e permite a criação de um banco com material genético de animais com tempo de vida limitado (ALVARENGA *et al.*, 2016).

Uma das limitações atuais para aplicabilidade plena e satisfatória da técnica de inseminação artificial utilizando sêmen congelado é sua menor taxa de fertilidade quando comparado ao sêmen fresco ou resfriado (FREITAS, 2015). Portanto, este estudo buscou avaliar as alterações nos parâmetros cinéticos do sêmen equino pós-descongelamento e a rediluição deste em crioprotetor.

MATERIAL E MÉTODOS

Com a ajuda de um manequim de coleta e uma vagina artificial modelo Botucatu (Botupharma, Botucatu Brasil), um total de cinco ejaculados foram coletados de um mesmo garanhão adulto de fertilidade comprovada da raça Mangalarga Marchador, em intervalos de

*Endereço para correspondência:
esouza.medvet@gmail.com

48 horas, sempre na presença de uma égua em estro. Após a filtragem em filtro de nylon apropriado para a retirada de gel e sujidades, a fração rica do sêmen foi avaliada quanto ao volume e aspectos macroscópicos (cor, consistência, odor). Em seguida, foram feitas as seguintes avaliações do sêmen, em microscópio ótico no aumento de 400x (CBRA, 2013) : motilidade total (MT - %); motilidade progressiva (MP - %) e vigor espermático (0 a 5). Além disso, a concentração espermática foi mensurada através do uso de espectrofotômetro especificamente graduado para o sêmen equino (SDM1, Minitube[®], Proto Alegre, Brasil). A fração rica de cada ejaculado foi então diluída em *BotuSêmen Special*[®] (Biotech Botucatu, Botucatu, SP) na proporção de 1:1 e centrifugada em temperatura ambiente (600g/10min) à um protocolo de criopreservação padrão (ALVARENGA *et al.*, 2016).

Foram descongeladas duas palhetas de cada ejaculado em uma temperatura de 37°C por 60 segundos para uma análise posterior, sempre pelo mesmo avaliador. Uma alíquota de 100µl do sêmen descongelado foi diluída no mesmo crioprotetor em que foi congelada (*BotuCrio*[®], Biotech Botucatu, Botucatu, SP, Brasil) na proporção 1:1 e mantida durante 5 minutos em banho maria (37°C). Os mesmos parâmetros cinéticos foram igualmente reavaliados. A análise estatística foi realizada através de *Teste t* utilizando o programa Bioestat[®] versão 5.3. (p>0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Motilidades Total (MT) e Progressiva (MP), e os resultados dos que apresentaram movimentação retilínea ou curvilínea estão expressos na Tab. 01. Não houve diferença estatística entre o grupo avaliado logo após a descongelação e o avaliado após nova diluição para os parâmetros cinéticos. Contudo, Zimmermann (2007), através de análise computadorizada do sêmen pós-descongelação aos 10 minutos e 1 hora após a diluição com *Botucrio*[®], verificou uma melhora na motilidade total e progressiva no tempo final, sugerindo que o tempo de 5 minutos pode ter sido curto para a análise dos efeitos do diluente.

Tabela 01: Valores médios da duplicada para cada procedimento de congelamento (C1 ao C5).

	VIGOR	%MP	%MC	%ES	%MT
C1	3,25	38,4	24,1	37,5	62,5
C1+BOTUCRIO	3,25	43,2	24,3	32,5	67,5
C2	3,25	41,0	16,5	42,5	57,5
C2+BOTUCRIO	3,25	42,7	19,8	37,5	62,5
C3	2,75	39,0	16,0	45,0	55,0
C3+BOTUCRIO	2,75	50,6	14,4	35,0	65,0
C4	3,25	35,4	17,1	47,5	52,5
C4+BOTUCRIO	3,50	39,5	10,5	50,0	50,0
C5	3,25	34,8	22,7	42,5	57,5
C5+BOTUCRIO	3,00	30,1	24,9	45,0	55,0

MP: Motilidade progressiva. MC: Motilidade curvilínea. Es: estáticos. MT: Motilidade total.

Embora a rediluição do sêmen no diluente Botucrío[®] após a descongelação não tenha melhorado os parâmetros seminais neste estudo, Camardo *et al* (2014) conseguiram 16,66% de prenhez utilizando sêmen equino descongelado adicionado ao mesmo diluente, sendo a inseminação realizada na pré-ovulação (24 horas após indução), indicando que a rediluição em Botucrío[®] pode aumentar o tempo de sobrevivência das células espermáticas no interior do trato reprodutivo das éguas. Além disso, o procedimento não se demonstrou deletério para o sêmen quanto aos parâmetros cinéticos básicos estudados podendo, portanto, ser uma possível estratégia viável para a utilização na rotina de inseminação artificial com sêmen congelado.

CONCLUSÃO

A rediluição do sêmen equino pós-descongelação em crioprotetor compatível não alterou os principais parâmetros cinéticos dos espermatozoides. Maiores estudos envolvendo um maior número de animais associados às ferramentas de avaliação mais profunda como análise computadorizada, integridades da membrana e DNA, bem como testes de fertilidade *in vitro* e *in vivo* podem ser definitivos para a demonstração mais clara dos benefícios da rediluição na fertilidade do espermatozoide equino pós-descongelação.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, M.A.; PAPA, F.O.; RAMIRES NETO, C. Advances in Stallion Semen Cryopreservation. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, v.32, n.3, p.521–530, 2016.
- CAMARGO, C.E.; SOUZA, A.C.G.; SANTOS, M.T.; SEGUI, M.S.; LUNELLI, D.; FERREIRA, A.J.; Avaliação do tempo de viabilidade do sêmen equino pós descongelação e ressuspenso com Botu-crio[®] sem crioprotetor: Resultados parciais. XV Conferência Anual Associação Brasileira dos Médicos Veterinários de Equídeos. Campos do Jordão, 2014.
- CBRA Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 2^a ed. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, MG. 2013. 45p.
- FREITAS, B.W. Efeito de diferentes crioprotetores e aditivos no diluente sobre a qualidade seminal de garanhões da raça Mangalarga Marchador. 116p. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa-MG, 2015.
- LIMA, R.A.S.; CINTRA, A.G. Revisão do Estudo do complexo do agronegócio cavalo. Brasília Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, 56p. 2016.
- ZIMMERMANN, M.F. Efeito da diluição do crioprotetor dimetilformamida em amostras de sêmen equino descongeladas utilizando-se dois diferentes diluentes comerciais. 65p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Publicação 256, 2007.