

ESTRATÉGIA DE SELEÇÃO ESPERMÁTICA PARA CONGELAÇÃO DE SÊMEN UTILIZANDO EQUIPURE™

(Sperm selection strategy for semen freezing using Equipure™)

Juliana Gomes VASCONCELOS^{1*}, Maria Eduarda Magalhães de SOUZA¹, Antônio Andrews SARAIVA¹, Antônio Carlos de Albuquerque Teles FILHO²

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

*E-mail: juliana.gomes@aluno.uece.br

ABSTRACT

Centrifugation of equine semen through a silanated silica-particle solution (Equipure™) has shown promise for enhancing the fertility of selected subfertile stallions. Thus, the present study aimed to evaluate the total and progressive motility and vigor of a Mangalarga Marchador stallion using a density gradient centrifugation (Equipure™) before and after cryopreservation.

Keywords: Equine, semen, equipure.

INTRODUÇÃO

Na espécie equina a seleção dos reprodutores não é realizada baseada nas características reprodutivas, mas através de fatores fenotípicos e performance atlética, tornando necessário o uso de estratégias para aumentar a qualidade do sêmen e a fertilidade destes animais (BRINSKO *et al.*, 2007).

As técnicas de seleção espermática visam melhorar a qualidade do sêmen fresco, refrigerado ou congelado de garanhões através da separação e eliminação dos espermatozoides defeituosos. Recentemente um gradiente de densidade para a seleção de espermatozoides, utilizando um coloide composto por partículas de sílica recobertas com silane, permitiu aumentar a taxa de recuperação espermática. Este gradiente é conhecido comercialmente como Equipure^T, que possui grande potencial para melhorar o aproveitamento reprodutivo (PAPA, 2012).

Assim, o presente estudo objetivou avaliar a seleção espermática através da motilidade total, progressiva e vigor do ejaculado de um garanhão da raça Mangalarga Marchador, utilizando a centrifugação com gradiente de densidade (Equipure™) antes e depois da criopreservação.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em julho de 2018, em um haras, localizado no município de Aquiraz, Ce, Brasil. Com a ajuda de um manequim de coleta e uma vagina artificial modelo Botucatu (Botupharma), um total de três ejaculados foi coletado de um mesmo garanhão adulto de fertilidade comprovada da raça Mangalarga Marchador, em intervalos

de 48 horas, sempre na presença de uma égua em estro. Após a filtração 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, foi avaliada a motilidade total (MT - %), progressiva (MP - %) e vigor (0 a 5) em microscópio ótico no aumento de 400x, de acordo com CBRA (2013). Além disso, a concentração espermática foi mensurada através do uso de espectrofotômetro, especificamente graduado para o sêmen equino (SDM1, Minitube[®]1). A fração rica de cada ejaculado foi então diluída em *BotuSêmen Special*[®] (Biotech Botucatu, Botucatu, SP) na proporção de 1:1 e dividida em dois grupos, o Grupo Controle (GC) e Grupo Equipure (GE). O GC foi centrifugado a uma temperatura ambiente (600g/10min) e as amostras do GE foram colocadas em 2 mL de gradiente de densidade (EquipureTM), em um tubo de 15 mL e centrifugados a temperatura ambiente (400g/20min). Ambos foram submetidos a um protocolo de criopreservação padrão (GOMES *et al.*, 2002). Foram descongeladas duas palhetas de cada ejaculado criopreservado à temperatura de 37 °C por 60 segundos para uma posterior análise, sempre pelo mesmo avaliador. Os mesmos parâmetros cinéticos foram igualmente reavaliados. A análise estatística foi realizada através de *ANOVA e teste de Tukey* utilizando o programa Bioestat[®], versão 5.3. (Diferença quando $p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Existem dois produtos para equinos que são comercialmente disponíveis e utilizados para promover a seleção espermática, o Equipure e o Androcoll.

Esses produtos já demonstraram a sua eficiência em separar células com motilidade adequada e morfológicamente normais do sêmen refrigerado de garanhões (MACPHERSON *et al.*, 2001). Também foi observado que a utilização da seleção espermática com coloide composto por partículas de sílica recobertas com silane, denominado de Equipure, aumentou a resistência espermática à refrigeração (RAMIRES-NETO *et al.*, 2013).

No presente estudo, as características de motilidade total (MT), progressiva (MP) e vigor espermático (V) estão expressas na Tab. 1. Observou-se que houve uma diferença estatística entre o GC e GE em relação aos parâmetros cinéticos MT (77 ± 6 / 63 ± 3) e MP (53 ± 6 / 35 ± 5) logo após a centrifugação, com valores melhores no caso do GC. Os resultados positivos em relação a MT no GC não corroboraram com os resultados de Papa *et al.* (2012), que ao testarem este coloide antes da congelação do sêmen equino, observaram um aumento significativo dos parâmetros de cinética espermática tanto após a seleção espermática quanto após a descongelação do sêmen, que foi previamente selecionado.

Tais resultados podem estar relacionados ao dobro de tempo de centrifugação a que o GE foi submetido. Mesmo com a MT sendo influenciada logo após a centrifugação, nos dois grupos testados os parâmetros não apresentaram diferenças significativas após o congelamento, como nos estudos de Ramires-Neto *et al.* (2013), onde observaram que a utilização da seleção espermática com EquipureTM aumentou a resistência espermática à refrigeração e preservou os parâmetros cinéticos seminais

Tabela 01: Valores médios dos parâmetros espermáticos em amostras de sêmen na pré-congelação e pós-descongelação, nos grupos controle e equipure ($p < 0.05$).

Características	Sêmen <i>in natura</i>	Grupo Controle (centrifugação)		Grupo Equipure (centrifugação)	
		Antes	Após	Antes	Após
Motilidade Total (%)	60±17	77±6 ^a	53±6 ^c	63±3 ^b	45±5 ^c
Motilidade Progressiva (%)	37±25	53±6 ^a	23±6 ^c	35±5 ^b	32±8 ^c
Vigor (0 a 5)	3,0±1,0	3,0±0,5 ^d	2,0±0,0 ^d	2,8±0,29 ^d	2,3±0,29 ^d

CONCLUSÃO

A utilização do gradiente de densidade EquipureTM não demonstrou diferença significativa em relação ao grupo controle quando comparado o sêmen após a descongelação. Maiores estudos devem ser realizados, pois esta tecnologia pode otimizar os parâmetros cinéticos do sêmen equino, principalmente após a descongelação, o que é essencial para o desempenho das biotécnicas reprodutivas.

REFERÊNCIAS

- BRINSKO, S.P.; LOVE, C.C.; BAUER, J.E.; MACPHERSON, M.L.; VARNER, D.D. Cholesterol-to-phospholipid ratio in whole sperm and seminal plasma from fertile stallions and stallions with unexplained subfertility. *Animal Reproduction Science*, Amsterdam, v.99, p.65-71, 2007.
- CBRA. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 2^a ed. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 2013. 45p.
- GOMES, G.M.; JACOB, J.C.F.; MEDEIROS, A.S.L.; PAPA, F.O., ALVARENGA, M.A. Improvement of stallion spermatozoa for the Mangalarga Marchador breed. *Theriogenology*, v.58, p.277-279, 2002.
- LEÃO KM. Inseminação artificial por endoscopia com número reduzido de espermatozoides utilizando sêmen fresco e congelado de garanhões. 2002, 105p. Tese (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2001.
- PAPA, P.M.; MAZIERO, R.R.D.; HARTWIG, F.P.; LISBOA, F.P.; DELLAQUA, J.A.; ALVARENGA, M.A.; GUASTI, P.N.; LANDIM-ALVARENGA, F.C.; PAPA, F.O. Effect of density gradient on sperm parameters os stallion frozen semen. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.32, p.505, 2012. Abstract.
- RAMIRES NETO, C.; MONTEIRO, G.A.; SOARES, R.F.; PEDRAZZI, C.; DELL'AQUA, J.A.; PAPA, F.O.; CASTRO – CHAVES, M.M.B.; ALVARENGA, M.A. New seminal plasma removal method for freezing stallion semen. *Theriogenology*, v.79, p.1120-1123, 2013.