



Avaliação de características morfológicas de espermatozoides equinos.

Lourrany Eduardo Souza ^{*1}, Lanna Maryana Costa Pereira¹, Camila da Silva Castro², Klayto José Gonçalves dos Santos³

¹ *Acadêmica de Zootecnia da Universidade Estadual de Goiás. Campus São Luís de Montes Belos, Goiás, Brasil. E-mail: lourrany0401@gmail.com

² Discente do Programa de Pós- Graduação Stricto Sensu em Desenvolvimento Rural Sustentável, Universidade Estadual de Goiás. Campus São Luís de Montes Belos, Goiás, Brasil.

³ Docente do Curso de Zootecnia da Universidade Estadual de Goiás. Campus São Luís de Montes Belos, Goiás, Brasil.

Resumo: Objetivou-se avaliar a adição de diferentes concentrações de Cisteína na criopreservação de sêmen eqüino. Foram utilizados cinco ejaculados de garanhão da raça Quarto de milha. As coletas de sêmen foram realizadas com o auxílio de vagina artificial previamente aquecida a temperatura de 45°C e uma égua em cio com o intuito de excitar o garanhão e posteriormente servir como manequim. Após a coleta foram realizadas análises do sêmen quanto ao volume, aspecto e odor. Onde foram divididos em quatro tratamentos: grupo controle com diluente sem antioxidante (T1-CON), diluente com adição de 1,5 mM de Cisteína (T2-CIS 1,5), um com 2,5 mM de Cisteína (T3-CIS 2,5) e outro com 3,5 mM de Cisteína (T4-CIS 3,5). Foram avaliadas a cinética espermática computadorizada no CASA. Através das avaliações em comparação da motilidade do sêmen fresco e do sêmen descongelado pode-se constatar diferença estatística significativa ($< 0,05$). No entanto, no que se refere aos tratamentos não se nota diferenças em nenhum dos momentos de avaliação após a avaliação.

Palavras-chave: Sêmen, cisteína, criopreservação, cinética espermática

Introdução

A equinocultura no país está em expansão onde a intensificação e tecnificação das criações estão sendo cada vez mais requeridas. A utilização de biotécnicas reprodutivas como a Inseminação Artificial (IA) e a Transferência de Embriões (TE) estão crescendo para melhorar a produção (FARIAS, 2013). A prática de criopreservação tem sido continuamente modificada e melhorada, notoriamente mais bem sucedida em bovinos do que em outras espécies domésticas (HAFEZ, 2004). No entanto a criopreservação de sêmen equino vem crescendo devido à facilidade



de transporte e armazenamento do material genético de garanhões por longo período de tempo (OLIVEIRA et al., 2013). Assim objetivou-se avaliar a ação da adição de diferentes concentrações de cisteína na criopreservação de sêmen eqüino.

Material e Métodos

Para realização do experimento foram utilizados cinco ejaculados de garanhão da raça Quarto de milha, com idade de 8 anos. Para a realização da coleta de sêmen foram utilizadas vagina artificial previamente aquecida a temperatura de 45°C e uma égua em cio com o intuito de excitar o garanhão e posteriormente servir como manequim. Após a realização da coleta foram feitas análises do sêmen quanto ao volume, aspecto e odor e logo encaminhadas ao Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal BIOTEC.

O espermatozoides móveis e a velocidade do movimento espermático foram avaliados com 20µL de sêmen *in natura* colocados entre lâmina e lamínula, onde as mesmas foram previamente aquecidas a temperatura de 37° C, em microscópio óptico classificando a motilidade total de 0 a 100% e o vigor espermático de 0 a 5 (CBRA, 2013). Posteriormente também foram submetidas a avaliação computadorizada da motilidade espermática e morfologia espermática. Somente os ejaculados que apresentaram acima de 60% de motilidade espermática, vigor ≤ 3 e $\geq 30\%$ de defeitos totais foram submetidos ao congelamento.

O sêmen foi diluído na proporção de 1:1 em meio à base de leite em pó desnatado (Botusêmen – BotuPharma - Botucatu/SP) e centrifugado a 2200rpm por 10 min (PAPA et al. 2005). Após a centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e o pellet de espermatozoides resultante foi ressuspendido com o diluente de criopreservação à base de gema de ovo, glicerol e metilformamida (Botucrio – BotuPharma – Botucatu/SP), dividido em quatro grupos: grupo controle com diluente sem antioxidante (T1-CON), diluente com adição de 1,5 mM de Cisteína (L-Cysteine - C7352 – Sigma-Aldrich Co – EUA) (T2-CIS 1,5), um com 2,5 mM de Cisteína (T3-CIS 2,5) e outro com 3,5 mM de Cisteína (T4-CIS 3,5). Após a diluição, as amostras foram envasadas em palhetas de 0,5 mL com concentrações ajustadas para 200×10^6



espermatozoides/mL. Em seguida acondicionadas na máquina de congelamento automatizado TK 3000® compacta (TK tecnologia em congelação Ltda., Uberaba, MG, Brasil) para curva de refrigeração de 0,25° C/min. até atingir 5° C estabilizando por duas horas e posteriormente curva de congelamento de 15°C/min. até atingir -120° C, momento em que as palhetas serão removidas do recipiente e imersas no nitrogênio líquido para serem acondicionadas em raques previamente identificadas nos canecos do botijão criogênico a -196° C. As amostras foram descongeladas a 37°C por 30 segundos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. As informações obtidas a campo foram editadas em planilhas do aplicativo Excel® disponível no pacote computacional Microsoft Office®. E os testes de comparação dos resultados de avaliação das amostras calculados pelo programa estatístico Bioestat 5.0®, por meio de análise de variância a 5% de significância, e as diferenças entre médias estudadas pelo teste T.

Resultados e Discussão

Os resultados referentes à motilidade do sêmen fresco em comparação ao sêmen congelado estão expostos na tabela 1

Tabela 1. Avaliação computadorizada da motilidade espermática do semen fresco em comparação ao semen descongelado.

	MOTILIDADE FRESCO	MOTILIDADE DESCONGELADO	P	CV %	DP
T1 CON	68,80 a	36,60 b	< 0,05	25,44	13,33
T2 CIS 1,5	67,40 a	30,20 b	< 0,05	17,83	8,70
T3 CIS 2,5	67,00 a	42,60 b	< 0,05	29,30	16,06
T4 CIS 3,5	70,40 a	41,00 b	< 0,05	25,44	14,17

* Letras diferentes na mesma linha indicam diferença (P < 0,05).

Entre as avaliações da motilidade do sêmen fresco e do sêmen descongelado houve diferença significativa (< 0,05) como já se era esperado, conforme o CBRA (2013). No presente trabalho foi atingida uma queda aproximada de 30% de motilidade



com o processo de congelamento. Todavia, conforme os resultados obtidos podemos notar que não apresentaram diferenças em nenhum dos momentos de avaliação quando refere-se aos tratamentos.

Logo que, em um trabalho realizado por Santos, et al (2015) com dois garanhões da Raça Nordestina, verificou-se que a motilidade total do sêmen fresco avaliada no CASA foi maior que a do sêmen descongelado, sendo $(80,91 \pm 9,29; 34,08 \pm 12,57B)$, respectivamente. Portanto, valor este superior quanto ao sêmen fresco e inferior quanto ao sêmen descongelado quando comparado são exposto no trabalho.

Considerações Finais

Conforme os resultados obtidos pode-se constatar que após a avaliação computadorizada da motilidade espermática do semen fresco em comparação ao semen descongelado apresentou diferenças estatísticas significativas. Porém, quando se refere aos tratamentos pode-se notar que não apresentou diferenças entre os mesmos em nenhum dos dois momentos de avaliação.

Agradecimentos

Referências

CBRA. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**, 3ª ed. Belo horizonte: CBRA, 2013.

FARIAS,DK. **Protocolo superovulatório com extrato de pituitária equina(epe) em éguas da raça Crioula e Quarto de milha**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) CAV-UDESC, Lages- SC,2013.



HAFEZ,E.S.E.;HAFEZ,B.**Reprodução Animal**.In:7Ed.SãoPaulo: Manole. 513p. 2004.

OLIVEIRA, G.C.;OLIVEIRA, B; M.M.;CELEGHINI,E.C. C.;FERNANDES,C. B.;MATTOS, C.B. Criopreservação do sêmen equino: uma revisão. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, BeloHorizonte,v.37,n.1,p.23-28,jan./mar. 2013a.

SANTOS, Maria Alice M. et al. Características do sêmen a fresco e descongelado de garanhões da raça Nordestina. **Pesq. Vet. Bras**, v. 35, n. 11, p. 925-932, 2015.