



Avaliação dos diluentes: TRIS-gema e Botu-Bov Egg Free® sobre fatores estruturais e fisiológicos do espermatozoide

Anderson Candido de Oliveira Junior*(IC)¹, Klayto José Gonçalves dos Santos(PQ)², Aracele Pinheiro Pales dos Santos(PQ)², Joyce Caroliny dos Santos Lopes (PQ)³, Rogério Batista Rodrigues(IC)⁴, Thaelly Nunes do Amaral⁴, Beatriz Barbosa Coutinho⁵.

¹Graduando em Zootecnia, CNPQ, Universidade Estadual de Goiás, Câmpus São Luis de Montes Belos, andersonjunior.zootecnia@hotmail.com

²Docente no curso de Zootecnia, Universidade Estadual de Goiás, Câmpus São Luis de Montes Belos

³Zootecnista, Mestranda -Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Desenvolvimento Rural Sustentável -UEG, Câmpus São Luís de Montes Belos.

⁴Graduando em Zootecnia, PIBIC/UEG, Universidade Estadual de Goiás, Câmpus São Luis de Montes Belos.

⁵Graduando em Zootecnia, PIVIC/UEG, Universidade Estadual de Goiás, Câmpus São Luis de Montes Belos.

Resumo: O aperfeiçoamento de análises espermáticas como uma ferramenta para predizer a fertilidade de reprodutores e assim poder aumentar a eficiência da IA e da produção *in vitro* de embriões, poderiam comprovar os resultados da literatura, ainda a controversos, onde normalmente avaliam a motilidade espermática associada à fertilidade. Além disto, há uma grande variação na fertilidade entre touros, o que poderia estar relacionado com a qualidade dos espermatozoides pós congelamento de cada animal. Após realizar as coletas de sêmen, o ejaculado foi dividido em duas partes iguais, sendo uma fração avaliada a fresco e a outra fração subdividida em duas, foi diluída com dois diluentes distintos: TRIS-gema e Botu-Bov Egg Free®, depois de diluído, foi realizado o congelamento para as análises de motilidade progressiva (MP), vigor, porcentual de espermatozoides vivos, teste hiposmótico e pH. Houve perda da motilidade progressiva (MP), o vigor não foi alterado nos tratamentos utilizando os meios de diluentes após congelamento, verificou-se queda acentuada no porcentual de células reativas ao teste hiposmótico, a redução do pH foi acentuada entre os tratamentos. Pode-se concluir que o sêmen fresco apresenta melhor viabilidade que o sêmen congelado.

Palavras-chave: Inseminação artificial. Bovino. Sêmen.

Introdução

O aperfeiçoamento de análises espermáticas como uma ferramenta para predizer a fertilidade de reprodutores e assim poder aumentar a eficiência da IA e da produção *in vitro* de embriões, poderiam comprovar os resultados da literatura, ainda



controversos, onde normalmente avaliam a motilidade espermática associada à fertilidade. Os testes de inseminação artificial (IA) ou fertilização *in vitro* (FIV) representam as técnicas de maior sensibilidade para o acesso ao potencial de fertilização das amostras seminais (Crespilho et al., 2009). Para testar a taxa de fecundação dos espermatozoides, pode ser utilizada a taxa de produção *in vitro* de embriões (PIVE) ou mesmo a taxa de penetração dos espermatozoides ou taxa de clivagem (Faber et al., 2003).

Contudo, se faz necessário avaliar a proteção e a viabilidade oferecida aos espermatozoides bovinos utilizando diluidores diferentes, compostos por proteína vegetal e gema de ovo, por meio de testes complementares referentes à integridade das membranas e correlacionar através de análises *in vitro* características fisiológicas e estruturais dos espermatozoides frescos e criopreservados em diferentes meios diluentes, á fresco e congelado, correlacionando os resultados das análises com touros de alta e baixa fertilidade *in vivo* e *in vitro*.

Material e Métodos

O estudo está sendo realizado no laboratório da Universidade Estadual de Goiás (UEG-UnU de São Luís de Montes Belos) e em propriedades localizadas no município. Estão sendo utilizados oito touros com características da raça Holandesa (*Bos taurus taurus*) sexualmente maduros. Com o auxílio de um eletro ejaculador, é feita a colote de sêmen, após a coleta, cada ejaculado foi dividido em duas frações. Uma fração, a fresco, utilizada para avaliação da cinética espermática. As duas frações foram diluídas na proporção 1:1 com os diluentes TRIS-gema e Botu-Bov Egg Free[®], uma das fração foi congelada. As amostras foram padronizadas, logo em seguida foram envasadas em palhetas de 0,5 ml devidamente identificados os grupos e lacradas com álcool polivinílico. Posteriormente, congeladas em máquina de congelação TK 4000 compacta. Ao final do programa de congelação, todas as palhetas foram imersas em nitrogênio líquido. Parte do ejaculado que foi congelado, será descongelado posteriormente para produção de embriões *in vitro*, outra parte será avaliada quanto a cinética espermática pelo CASA, integridade das membranas espermáticas, capacitação e potencial de membrana mitocondrial por citometria de fluxo, teste de termo resistência (TTR) e taxa de prenhes na IA.



epe

V ENCONTRO DE PESQUISA E EXTENSÃO
Ciência alimentando o Brasil
27 a 30 de setembro de 2016
UEG - Câmpus São Luís de Montes Belos

CÂMPUS
SÃO LUÍS DE
MONTES BELOS

UEG UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE GOIÁS

Resultados e Discussão

Os resultados referentes às análises para o experimento estão mostrados na tabela 1.

TABELA 1 – Resultados das análises do sêmen utilizando TRIS GEMA e BUTO-BOV

	TT M	Mot (%)	Vigor	Vivos (%)	HO (%)	pH
Sêmen Fresco		70,7 ± 5,9^a	4 ± 0,5^a	76,5 ± 7,8^a	60,0 ± 14,0^a	6,8 ± 0,4
	1	66,0 ± 5,5 ^A	4 ± 0,5 ^A			6,6 ± 0,5 ^A
	2	66,7 ± 5,8 ^A	4 ± 0,5 ^A			6,0 ± 0,0 ^B
	3	50,0 ± 8,2 ^B	3 ± 0,5 ^B			5,5 ± 0,5 ^B
Sêmen congelado		51,8 ± 4,0^b	3 ± 0,5^a	76,6 ± 8,1^a	49,12 ± 12,2^b	6,6 ± 0,5
	1	53,3 ± 11,5 ¹	3 ± 0,6 ^a			6,6 ± 0,5 ¹
	2	50,0 ± 17,3 ¹	3 ± 0,6 ^{ab}			6,0 ± 0,0 ²
	3	40,0 ± 10,0 ¹²	3 ± 0,0 ^{ab}			5,5 ± 0,5 ³

Letras minúsculas, maiúsculas e números diferentes na mesma coluna indicam diferenças (P<0,05).

TTM= Tratamento 1(controle), 2 (TRIS GEMA), 3 (BUTO BOV).

Diferentes protocolos de congelamento têm sido utilizados para criopreservar espermatozóides. No entanto, como existe uma variação nos diluentes e nos procedimentos utilizados em cada protocolo, a comparação direta dos resultados não é adequada. Até o momento o experimento está sendo desenvolvido conforme previsão.

Considerações Finais

O sêmen fresco apresentou melhor viabilidade de uso que o sêmen congelado e o meio de diluente TRIS GEMA apresentou melhor viabilidade quando comparado ao Buto-Bov na diluição a fresco e também na diluição para a fração congelada de sêmen.

Referências

- Crespilho, A. M.; Papa, F. O.; Martins, J. A.; Dell'Aqua, J. J. A.; Evaluation of frozen bovine semen: How do semen collection and processing centers evaluate the quality of commercialized samples? **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 16: 335-342, 2009.
- Faber, D. C.; Molina, J. A.; Ohlrichs, C. L.; Vander Zwaag, D. F.; Ferre, L. B.; Commercialization of animal biotechnology. **Theriogenology**, 59: 125-138, 2003.