



Avaliação da fertilidade de espermatozoides fresco e congelados para a produção de embriões *in vitro*

Thaelly Nunes^{*1}, Klayto Santos², Aracele Pales², Joyce Lopes³, Raiany Paula³, Celio Nunes Junior⁴, Pedro Ramos⁵, Ester Maciel⁴, Lucas Santos⁴, Beatriz Coutinho¹

^{*1}Discente do curso de Zootecnia e Bolsista PBIC/UEG, ²Docente do Curso de Zootecnia, ³Discente do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Desenvolvimento Rural Sustentável e Bolsista UEG, ⁴Discente do Curso de Zootecnia, ⁵ Discente do Curso de Zootecnia e Bolsista PVIC/UEG; ^{1,2,3,4,5} Universidade Estadual de Goiás, São Luís de Montes Belos, Goiás, Brasil*
thaellynunes@outlook.com

As biotecnologias reprodutivas podem contribuir enormemente com os programas de melhoramento genético animal. 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. O estudo foi realizado no laboratório de Biotecnologia da reprodução da Universidade Estadual de Goiás (UEG-Campus de São Luís de Montes Belos) e em propriedades localizadas no município. Foram utilizados oito touros da raça Holandesa (*Bos taurus taurus*) sexualmente maduros. Os ejaculados coletados utilizando-se eletroejaculador, foram considerados apenas os ejaculados com motilidade >70% e anormalidades morfológicas <30%. Após a coleta, cada ejaculado foi dividido em duas frações. Uma fração, a fresco, utilizada para avaliação da cinética espermática. A outra fração foi congelada, sendo diluída 1:1 com a fração I (sem glicerol) dos diluentes TRIS-gema e Botu-Bov Egg Free[®] (constituído de lecitina de soja), sendo refrigeradas à 4 °C por 90 min. Para avaliar as diferenças entre os meios diluentes foi acrescidas nas amostras 50% do volume com as respectivas frações II dos diluentes (com 13% de glicerol) padronizando a concentração final em 30x10⁶ espermatozoides viáveis (adotando a motilidade espermática como critério), envasadas em palhetas de 0,5mL devidamente identificados os grupos e lacradas com álcool polivinílico. Posteriormente foram congeladas em máquina de congelação TK 4000 compacta (TK, Uberaba, MG, Brasil). 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 prenhez na IA. Houve perda da motilidade progressiva (MP) verificada imediatamente após a colheita e após congelação (P<0,05). Para os experimentos a adição do meio diluente utilizado após centrifugação resultou em perda da MP, diferindo entre os tratamentos (P<0,05). O vigor não foi alterado nos tratamentos utilizando os meios diluentes após congelação, mas sim comparado o sêmen fresco com congelado (P<0,05). O sêmen fresco apresentou ser melhor do que o congelado e diluente TRIS GEMA teve resultados melhores, onde no clivado foi de 68,3%, e no Dia 7 de 20,5 %.

Palavras-chave: diluente, viabilidade, congelamento, fresco, sêmen, motilidade.