

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

CINÉTICA ESPERMÁTICA PÓS-DESCONGELAÇÃO DE SÊMEN BOVINO CRIOPRESERVADO EM DILUIDOR CONTENDO LECITINA DE SOJA

Laine Oliveira da SILVA*¹, Marina Marie Bento NOGUEIRA¹, Leila de Oliveira SOARES¹, Antônio José Souza da SILVA¹, Elson Ferreira da CRUZ JÚNIOR¹, Vanusa Jardim de Araújo SILVA¹, Marcelo Helder Medeiros SANTANA¹, Jefferson Viana Alves DINIZ¹

*autor para correspondência: linyolivergossow@gmail.com

¹Instituto Federal do Acre, Sena Madureira, Acre, Brasil

Abstract: The purpose of this experiment was to evaluate the sperm kinetics of cryopreserved bovine semen in diluent containing egg yolk, with and without the use of soy lecithin. Two bulls of the Holstein breed were used, from which they were obtained ejaculated through of artificial vagina, heated at 42°C. The semen volumes were determined with in graduated tubes, then kept at 37°C water bath until processed for cryopreservation. For freezing, the commercial Botu-Bov® diluent with the inclusion of egg yolk in the proportion of 20% (group A) or 15% plus 3% soy lecithin (group B). The evaluation of total motility parameters (MT), progressive motility (MP), average path velocity (VAP) and straight line velocity (VSL) were performed by the CASA method and the means were compared by t test at 5% significance. It was found that the group that did not receive the soy lecithin in diluent obtained the MT and MP best-preserved ($p < 0.05$). While VAP and VSL not found differences ($p > 0.05$). Cryopreservation with diluent containing 3% of soy lecithin did not increase sperm kinetics, allowing to conclude that its use in the diluent composition may result in lower fertility semen than those processed in traditional diluents.

Palavras-chave: criopreservação, diluente, espermatozoide, fertilidade

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Introdução

O processo de criopreservação de sêmen é uma biotecnologia reprodutiva que permite a manutenção da vitalidade espermática por períodos variados, o que possibilita sua utilização futura na técnica de inseminação artificial. Durante a criopreservação as células espermáticas são submetidas a temperaturas extremamente baixas quando expostas ao nitrogênio líquido, sendo assim, o uso de diluidores é fundamental para minimizar injúrias decorrentes do choque térmico. A gema de ovo é tradicionalmente utilizada com o propósito de conferir proteção extracelular ao espermatozoide, devido à presença de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), particularmente os fosfolipídeos, que são componentes efetivos na preservação e proteção das membranas espermáticas.

Problemas relacionados ao uso de produtos de origem animal nos meios de diluição tais como, riscos de contaminação microbiana e a falta de padronização de componentes, motivaram a realização de estudos visando substituir a gema de ovo por outras substâncias (ARIFIANTINI e YUSUF, 2010). Desse modo, a lecitina de soja surgiria como uma alternativa à gema de ovo atuando na proteção dos componentes fosfolipídicos da membrana espermática, aumentando sua tolerância à criopreservação (FOROUZANFAR et al., 2010). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a cinética espermática de amostras seminais bovinas criopreservadas em diluente contendo gema de ovo, com e sem o emprego de lecitina de soja.

Material e Métodos

Foram utilizados dois touros da raça Holandesa, com idade entre cinco e seis anos, pesando em média 786 kg (\pm 69), com histórico de fertilidade comprovada, alojados em central de coleta de sêmen localizada no município de Botucatu

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

(latitude 22°53'09" Sul e longitude 48°26'42" Oeste), Estado de São Paulo. Os ejaculados foram obtidos por meio de vagina artificial, aquecida a 42°C e os volumes de sêmen determinados em tubos graduados, posteriormente mantidos em banho-maria a 37°C, até serem processados para criopreservação.

Para a criopreservação, adotou-se como ponto de corte valores iguais ou superiores à concentração espermática de $300 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ e motilidade superior a 70% de espermatozoides móveis. Empregou-se o diluente Botu-Bov® (Botupharma, Botucatu, SP, Brasil) contendo gema de ovo nas proporções de 20% (grupo A) e de 15% com adição de 3% de lecitina de soja (grupo B).

Para avaliação das características seminais após a criopreservação, as palhetas de sêmen foram descongeladas por submersão em água a 37°C durante 30 segundos, posteriormente abertas e seu conteúdo colocado individualmente em micro tubos aquecidos a 37°C.

A cinética espermática foi avaliada pelo método CASA (Hamilton Thorne Research – IVOS 12, Beverly, MA, USA), onde se definiu cinco campos aleatórios com número mínimo de 200 espermatozoides por campo, nos quais se avaliaram os seguintes parâmetros: motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade de trajeto (VAP) e velocidade linear (VSL). Para essas análises, utilizou-se o Programa GraphPad Prism versão 6.0 para Windows (GraphPad software, LA Jolla, Califórnia, USA), e as médias e erro padrão foram comparadas pelo teste t, com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Analisadas as variáveis de motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP), velocidade de trajeto (VAP) e velocidade linear (VSL), constatou-se diferença apenas em relação às duas primeiras, que se mostraram melhores preservadas nas

Promoção e Realização:

Apoio Institucional:

Organização:

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

células espermáticas do grupo que não recebeu a lecitina de soja (grupo A) (tabela 01).

Tabela 01 – Média e erro padrão das variáveis: MT, MP, VAP e VSL de células espermáticas criopreservadas em diluidor à base de gema de ovo, sem e com lecitina de soja

Variáveis	Grupo A	Grupo B
MT (%)	52 ± 3,4 ^a	43 ± 2,9 ^b
MP (%)	41 ± 2,6 ^a	32 ± 2,1 ^b
VAP (µm/s)	76 ± 1,5	75 ± 1,4
VSL (µm/s)	64 ± 1,0	63 ± 1,0

^aMT: motilidade total; ^bMP: motilidade progressiva; ^cVAP: velocidade de trajeto; ^dVSL: velocidade linear; ^eGrupo A: 20% de gema de ovo sem lecitina de soja; ^fGrupo B: 15% de gema de ovo + 3% de lecitina de soja. Letras minúsculas distintas na mesma linha diferem (p<0,05) pelo teste t

Estudos apontam que o uso de lecitina soja nos diluidores de sêmen para criopreservação resulta em melhores resultados na cinética espermática (DELL'AQUA JÚNIOR et al., 2007). No entanto, os resultados obtidos no presente trabalho não demonstraram efeito favorável a sua utilização nos meios de diluição.

A redução da motilidade dos espermatozoides criopreservados em diluente contendo 3% de lecitina de soja (Grupo B) pode ser decorrente da alta viscosidade da lecitina, o que reduziria a capacidade de locomoção dos espermatozoides, tornando-os ineficientes para fertilização (FOROUZANFAR et al., 2010).

As variáveis como MT e MP correlacionam-se positivamente com a fertilidade (KATHIRAVAN et al., 2008). Portanto, pode-se inferir que o sêmen do grupo A possuiria maior efetividade em comparação ao que foi diluído em gema de ovo mais lecitina de soja (grupo B). Isto pode ser atribuído ao fato de que as lecitinas, quando em alta concentração, podem ser prejudiciais aos espermatozoides.

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

O grande desafio do processo de congelação de células espermáticas, independente da espécie animal, está associado à técnica e aos constituintes dos meios de criopreservação. Ainda que avanços e resultados robustos tenham sido relatados, lesões decorrentes do processo de criopreservação em espermatozoides de ruminantes continuam a ser descritas como elevadas.

Conclusão

O sêmen criopreservado com diluente contendo 3% de lecitina de soja não incrementou a cinética espermática, permitindo-se concluir, ainda, que seu emprego na composição do diluidor pode resultar em sêmen com fertilidade inferior aos processados em diluidores tradicionais.

Referências

- ARIFIANINI, R.I.; YUSUF, T.L. Developing of Tris Soy Milk Diluent for Frisian Holstein Bull Frozen Semen. **Journal of Biosciences**, v.17, n.2, p.91-94, 2010.
- DELL'AQUA JUNIOR, J.A.; PAPA, F.O.; FREITAS, C.P.; ALVARENGA, M.A.; MELO, C.M.; CRESPILO, A.; SIQUEIRA FILHO, E.R.; ALBERTI, K.; DE VITA, B.; BARCELLOS, G.; MEDEIROS, A.S.L. New proposal of a bovine chemically defined semen extender. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, p.1001, 2007.
- FOROUZANFAR, M.; SHARAFI, M.; HOSSEINI, S.M.; OSTADHOSSEINI, S.; HAJIAN, M.; HOSSEINI, L.; ABEDI, P.; NILI, N.; RAHMANI, H.R.; NASR-ESFAHANI, M.H. In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of ram semen. **Theriogenology**, v.73, p.480-487, 2010.
- KATHIRAVAN, P.; KALATHARAN, J.; EDWIN, M.J.; VEERAPANDIAN, C. Computer automated motion analysis of crossbred bull spermatozoa and its relationship with in vitro fertility in zona-free hamster oocytes. **Animal Reproduction Science**, v.104, p.9-17, 2008.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:

