

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

## **AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DE ESPERMATOZÓIDES CRIOPRESERVADOS COM EXTRATO DE AÇAÍ**

Mariana Araujo ANDRADE\*<sup>1</sup>, Janaina Barros LUZ<sup>1</sup>, Luis Rennan Sampaio OLIVEIRA<sup>1</sup>, Kaliandra Souza ALVES<sup>1</sup>, Rafael Mezzomo<sup>1</sup>, Franciellem Thaiuina de Souza SILVA<sup>1</sup>, Raphael Acácio Coelho MORAIS<sup>1</sup>, Sandra de Sousa BARCELOS<sup>1</sup>

\*autor para correspondência: maary1905@gmail.com

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia, Parauapebas, Pará, Brasil

**Abstract:** The cryopreservation process of spermatozoa may contribute to the occurrence of morphological defects in the cells as a result of temperature changes. Thus, it becomes necessary to offer additional protection during this process, which can be achieved by the addition of certain substances to the thinner media. In the present study, we performed the morphological evaluation of cryopreserved spermatozoa with different concentrations of açai (*Euterpe oleracea Martius*) extract. The semen samples, obtained by the electroejaculation method, came from five bulls of the senepol breed. For the cryopreservation, we used five experimental groups: pure Triladyl® (Control); Triladyl® incorporated with 5, 10, 15 or 20 mg of açai extract per mL of thinner media. The sperm morphology was evaluated by means of the humid chamber technique, involving 200 spermatozoa, and classifying them into major, minor and total defects. The data was subjected to variance and regression analyses at the significance level ( $p < 0,05$ ). The percentage of major defects had a quadratic effect ( $P < 0,05$ ), but minor and total defects were not affected ( $P > 0,05$ ) by the addition of açai the media. The total incorporation of açai in the thinner media used for freezing keeps the morphological defects of sperm cells in acceptable levels.

**Palavras-chave:** Cryopreservation, defects, ejaculate, *Euterpe oleracea Martius*, bulls

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

## Introdução

O processo de criopreservação de semen vem ganhando espaço no mercado por melhor selecionar animais de alto valor zootécnico. Entretanto, durante o processo ocorrem perdas de até 50% de viabilidade do ejaculado, quando comparado ao sêmen fresco, parcela desta perda está relacionado ao aumento no número de defeitos morfológicos das células, que comprometem a atividade funcional dos espermatozoides quando descongelados, essa avaliação segundo Freneau (2011) é um procedimento simples, porém de grande importância para acompanhar o desenvolvimento reprodutivo em touros.

De acordo com Leite (2011) os fatores que vão afetar na sobrevivência dos espermatozoides congelados e sua viabilidade pós descongelação incluem a composição do meio diluidor, crioprotetores, taxas de congelação/descongelação, condições osmóticas e remoção dos crioprotetores. Busca-se então um meio diluente eficaz que diminua de forma considerável as perdas durante as variações térmicas (25°C até -120°C) presentes no processo, estudos com diferentes aditivos aos meios diluidores vem sido testado, com destaque aos ricos em antioxidantes.

Em vista disso o extrato de Açaí (*Euterpe oleracea Martius*) é um produto que possui em sua composição compostos fenólicos, que são componentes com potencial antioxidante (Santos et. al, 2008), de modo que o açaí pode ser um eficiente ingrediente a ser acrescido nos diluidores utilizados na criopreservação de sêmen. Portanto, objetivou-se realizar a avaliação morfológica de espermatozoides criopreservados com diferentes concentrações de extrato açaí.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de corte e no Laboratório de Biotecnologia em Reprodução Animal de Carajás da Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus de Parauapebas, Pará, Brasil. Foram utilizados 5 touros da raça Senepol, com idade entre 24 e 30 meses e peso inicial

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

de 600 kg. As amostras de sêmen foram obtidas pelo método de eletroejaculação e, em seguida analisadas em microscopia de luz, quanto a motilidade (%), vigor (1-5) e concentração espermática utilizando câmara hematocimétrica.

Para a criopreservação do sêmen foi utilizado o diluidor Triladyl® (controle), e Triladyl acrescido de 5; 10; 15 e 20 mg de extrato de açaí por mL de meio. As amostras foram envasadas em palhetas de 0,25 mL com concentração final de  $24 \times 10^6$  espermatozoides/palheta. A criopreservação foi realizada em máquina de congelamento modelo TK 3000®, até que as amostras atingissem a temperatura de  $-120^\circ\text{C}$ . Posteriormente as palhetas foram colocadas no nitrogênio líquido, com temperatura equivalente a  $-196^\circ\text{C}$  em seguida armazenadas em botijão criogênico.

Para avaliação morfológica, as amostras foram descongeladas ( $37^\circ\text{C}$  por 30 segundos) e depositou-se 20  $\mu\text{L}$  de sêmen em tubos plásticos (Eppendorf®) contendo 1 mL de solução formol-salina-tamponada pré-aquecida à  $37^\circ\text{C}$ . Nesta avaliação foi empregada a técnica de câmara úmida, contabilizando 200 células para identificação de alterações morfológicas. As porcentagens de anormalidades foram classificadas em defeitos maiores e menores, de acordo com o manual de andrologia do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (Henry e Neves, 2013).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e de regressão por intermédio do programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). O valor de P foi considerado significativo quando  $<0,05$ .

## Resultados e Discussão

Houve diferença significativa em relação aos defeitos maiores ( $P < 0,05$ ), no entanto os defeitos menores e defeitos totais não foram afetados ( $P > 0,05$ ) com a adição de extrato de açaí (Tabela 1) ao diluente de criopreservação, não reduzindo a viabilidade do sêmen.

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Tabela 1 – Parâmetros dos defeitos em função da adição de extrato de açaí ao meio diluidor

Parâmetros (%)	Adição de açaí (mg/mL de meio)					EMP	Valor-P	
	0	5	10	15	20		L.	Q.
Defeitos maiores	1,38	1,80	1,56	0,92	1,0	0,22	0,02	0,20
Defeitos menores	13,58	11,88	11,94	11,88	11,98	0,91	0,27	0,31
Defeitos totais	14,96	13,64	13,50	12,80	12,98	0,95	0,11	0,49

Os principais sistemas de classificação de defeitos são baseados na origem das deformidades e nos seus efeitos sobre a fertilidade, Henry e Neves (2013) determinou parâmetros máximos de deficiências toleráveis presentes em cada ejaculado analisado, são aceitos defeitos maiores de até 20% e defeitos totais de até 30%, de modo que nenhum dos resultados obtidos excedeu o permitido (Tabela 1).

A porcentagem de espermatozoides normais apresenta boa correlação com a fertilidade, foi o que Phillips et al. (2004) comprovou em seus estudos, onde utilizou 30 análises laboratoriais padrões na tentativa de determinar os índices de fertilidade do sêmen bovino congelado, onde somente a avaliação da morfologia espermática pós descongelação apresentou correlação significativa com a taxa de concepção pós inseminação artificial. Phillips pôde concluir ainda que, as melhores equações encontradas foram derivadas dos resultados referentes à morfologia espermática, o que proporcionou a identificação do potencial de fertilidade dos touros.

### Conclusão

A incorporação de extrato de açaí no meio diluidor de congelamento mantém os defeitos morfológicos das células espermáticas em níveis aceitáveis.



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

### Referências

- Freneau, G. E. 2011. Aspectos da morfologia espermática em touros. Revista Brasileira Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.160-170.
- Henry, M.; Neves, J.P. 2013. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. CBRA, 2ed., 49p.
- Leite, P. A.; Schreder, G. G.; Almeida, C. L. R.; Zúccari, C. E. S. N.; Silva, E. V. 2011. Criopreservação do Sêmen Bovino. UNOPAR Científica Ciências Biológica e da Saúde, v. 13, p. 279-286.
- Phillips, N. J.; Mcgowan M. R.; Johnston S. D.; Mayer D. G. 2004. Relationship between thirty post-thaw spermatozoa characteristics and field fertility of 11 high-use Australian dairy AI sires. Animal Reproduction Sci, v.81, p.47-61.
- Santos, G. M.; Maia, G. A.; Sousa, P. H. M.; Costa, J. M. C.; Figueiredo, R. W.; Prado, G. M. 2008. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). ALAN, v.58 n.2 Caracas.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:

