

## **EFEITOS DE DILUENTES NO SÊMEN SUÍNO ARMAZENADO EM DIFERENTES TEMPERATURAS**

**Modalidade:** ( ) Ensino (X) Pesquisa ( ) Extensão

**Nível:** ( ) Médio (X) Superior ( ) Pós-graduação

**Área:** ( ) Química ( ) Informática (X) Ciências Agrárias ( ) Educação ( ) Multidisciplinar

**Autores :** Kebb Klobukoski BORSTNEZ<sup>1</sup>, Mayara TAMANINI<sup>1</sup>, Bruna Rubi ALVES<sup>1</sup>, Ricardo Luiz Calbo PERDONCINI<sup>1</sup>, Júlia DUARTE<sup>1</sup>, Cristiano TWARDOWSKI<sup>3</sup>, Juahil OLIVEIRA JUNIOR<sup>2</sup>, Elizabeth SCHWEGLER<sup>2</sup>, Fabiana MOREIRA<sup>2</sup>, Ivan BIANCHI<sup>2</sup>.

**Identificação autores:** 1. Bolsista PIBIC/CNPq. 2. Professor do curso de Medicina Veterinária IFC-Araquari. 3. Técnico Administrativo do IFC-Araquari.

### **Introdução**

Na suinocultura o uso de biotécnicas de reprodução vem crescendo exponencialmente. Uma vez que o aumento da demanda exige não só quantidade, mas também qualidade, se faz essencial o uso de técnicas que atendam as demandas do produtor (Levis, 2000). O uso da inseminação artificial em suínos começou a ser estudada na década de 20, no entanto só a partir de 1970 tomou um grande impulso (Corrêa *et al.*, 2004). No Brasil, ao menos em 80% das matrizes do plantel tecnificado, esse método é utilizado. A inseminação artificial proporciona diversas vantagens ao suinocultor, como: o uso de sêmen de machos geneticamente superiores que não pertencem a mesma granja; maior aproveitamento de bons reprodutores através do uso intensivo; maior controle da eficiência reprodutiva do plantel; os materiais necessários para o seu emprego, são simples, tornando viáveis os custos de produção, necessitando apenas, de mão de obra qualificada; homogeneidade dos lotes pela padronização das características de produção e carcaça; controle da viabilidade espermática do sêmen selecionado, entre outros.

No entanto, para que o uso dessa técnica seja aproveitada ao máximo, se faz essencial estudos que garantam a qualidade e longevidade do sêmen pelo maior tempo possível, proporcionando para o produtor melhor custo-benefício. Do total de granjas que fazem uso da inseminação artificial, 85% realizam a técnica no mesmo dia da coleta ou 1 dia após (Johnson *et al.*, 2000). Uma vez que a inseminação artificial não é difundida na suinocultura com sêmen congelado, devido à baixa eficiência de crioprotetores em manter a integridade das células em temperaturas negativas, se fazem necessários métodos que mantenham a qualidade do sêmen refrigerado (Deschamps *et al.*, 1997). Diluentes são utilizados para que o sêmen possa ser refrigerado nas temperaturas de 5 e 15°C sem que os espermatozoides sofram danos que tornem a fecundação inviável.

O diluente mais comum é o BTS (*Beltsville Thawing Solution*), que mantém a viabilidade espermática por 1 a 3 dias. Existem diluentes de longa duração, que mantém o sêmen viável por até 7 dias, no entanto, devido ao alto custo não são comumente utilizados

(Johnson *et al.*, 2000). Portanto, o BTS é o diluente mais utilizado atualmente para preservação de sêmen na suinocultura. Realizar pesquisas sobre a adição de substâncias e variações de temperatura são essenciais para o desenvolvimento de biotécnicas que melhorem os rendimentos econômicos ao produtor. Para a conservação do sêmen na temperatura de 15°C se faz necessário uma geladeira especial, sendo que na temperatura de 5°C poderia ser utilizado refrigeradores domésticos.

O objetivo do presente estudo é testar o efeito da adição da gema de ovo na composição de diluentes a fim de viabilizar o uso da inseminação artificial com o sêmen armazenado à 5°C.

### **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido com os animais da Unidade de Ensino e Aprendizado Suinocultura do Instituto Federal Catarinense *Campus Araquari*. Foram utilizados 4 cachacos, sendo 3 Large White X Landrace, e 1 Duroc. As coletas de sêmen foram realizadas através do método da mão enluvada com auxílio de manequim para monta dos animais, ao longo de 10 semanas (Bearden & Fuquay, 1997).

Cada ejaculado foi submetido a três preparações de diluentes: BTS + Gema de ovo 5°, BTS + Gema de ovo 15°, BTS 15°. Para condicionar as amostras, eram adicionados 5% de Gema de ovo ao BTS. Após cada coleta, a motilidade (0 a 100%) e o vigor (1 a 5) espermáticos eram avaliados com o sêmen ainda puro (Cbra, 2013). O volume de cada ejaculado também foi quantificado para o cálculo da concentração espermática. Foram adicionados 10 mL de sêmen a 80 mL de cada diluente, e mantidos a 37° até a primeira avaliação (0h). As 12 amostras foram submetidas a refrigeração com a sua temperatura correspondente. As demais avaliações de motilidade e vigor eram realizadas após 24h, 48h e 72h de refrigeração. Antes de cada avaliação, 1 mL de cada amostra foi incubada em *eppendorfs* a 37° por 15 min.

Para as análises estatísticas utilizou-se o pacote computacional STATISTIX10® (2013).

### **Resultados e discussão**

Na análise descritiva (Tabela 1), pode-se observar valores da motilidade, volume e concentração dos ejaculados. Observa-se valores médios dentro de parâmetros fisiológicos para a espécie.

Tabela 1: Análise descritiva de motilidade, volume e concentração para cada macho (média ± erro padrão da média)

Macho	n	Motilidade	Volume	Concentração
1	10	88,0 ± 1,3	439,5 ± 16,5	548,1 ± 44,0
2	10	88,0 ± 1,3	425,6 ± 14,8	702,2 ± 89,3
3	10	85,0 ± 1,3	436,5 ± 19,7	471,4 ± 41,4
4	10	85,0 ± 1,3	446,5 ± 3,2	476,8 ± 36,3

A distribuição de frequência do vigor espermático de acordo com cada tratamento ao decorrer de 72h (Tabela 2), demonstrou maior eficiência do BTS + Gema de ovo 15°C. Uma vez que se faz necessário que as células espermáticas possuam vigor maior ou igual a 3, para otimizar a viabilidade no trato reprodutivo da fêmea, a presença de Gema de ovo na composição dos diluentes demonstrou ser a melhor alternativa na temperatura de 15°C.

Tabela 2: Distribuição de frequência do vigor espermático (%)

Tratamento	n	Vigor espermático (≥3)			
		0h	24h	48h	72h
BTS 15°C	40	32,5	22,5	5	2,5
BTS + Gema 15°C	40	97,5	97,5	87,5	45
BTS + Gema 5°C	40	92,5	57,5	45	2,5

A Tabela 3 confirma os melhores resultados de motilidade espermática no tratamento BTS + Gema 15°C (P<0,05), denotando a sua superioridade comparado aos demais ao longo de 72h. É possível observar a superioridade dos tratamentos onde a gema de ovo foi adicionada. Tal fato pode-se atribuir a diversos fatores, como a sua capacidade de fluidificar o meio, tornando distribuição espermática mais homogênea, evitando assim, aglomeração celular (Bergerom *et al.*, 2004; Majunath *et al.*, 2002). Tal aglomeração, além de causar danos morfológicos as células espermáticas, também acidifica o pH do meio, levando a morte celular.

A superioridade dos tratamentos onde a gema de ovo é adicionada são visíveis logo após a primeira análise na diluição de 0h, no entanto se tornam mais evidentes 48h após. Denotando assim, uma maior eficácia do armazenamento do sêmen até 3 dias.

Tabela 3: Média e erro padrão da motilidade espermática para os tratamentos de sêmen suíno refrigerado até 72h.

Tratamento	n	Motilidade (média ± erro padrão)			
		0h	24h	48h	72h
BTS 15°C	40	50,3 ± 2,4 <sup>b</sup>	40,0 ± 3,1 <sup>c</sup>	23,8 ± 2,8 <sup>c</sup>	14,0 ± 2,4 <sup>b</sup>
BTS + Gema 15°C	40	78,8 ± 1,3 <sup>a</sup>	73,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	60,3 ± 3,8 <sup>a</sup>	57,0 ± 3,7 <sup>a</sup>
BTS + Gema 5°C	40	79,0 ± 1,3 <sup>a</sup>	59,0 ± 2,6 <sup>b</sup>	47,6 ± 2,9 <sup>b</sup>	28,3 ± 3,2 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup> Sobrescritos na coluna diferem P < 0,05

### Conclusão

O uso de Gema de ovo na composição dos diluentes possibilita melhores resultados de qualidade espermática até às 72h de avaliação.

### Referências

- BEARDEN, H.J.; FUQUAY, J.W. Semen collection. In: BEARDEN, H.J.; FUQUAY, J.W. **Applied Animal Reproduction**. 4<sup>th</sup> Ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. Cap. 14, p.147-157.
- BERGERON, A.; CRÊTE, M.H.; BRINDLE, Y.; MANJUNATH, P. Low-density lipoprotein fraction from hen`s egg yolk decreases the binding of the major protein of bovine seminal plasma to sperm and prevents lipid efflux from the sperm membrane. **Biology Reproduction**. v. 70; p. 708-717. 2004.
- CBRA: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3<sup>a</sup> ed. [s.l.], 2013. 104 p.
- CORRÊA, M.N.; LUCIA, T.JR; DESCHAMPS, J.C.; SERRET, C.G.; BORDIGNON, J.; RAMBO, G. Taxa de penetração espermática in vitro em ovócitos suínos utilizando espermatozóides acondicionados com o diluente PIGPEL-5 à 5°C. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 28, 161-169, 2004.
- DESCHAMPS, J.C.; BASTOS, R.G.; NICOLA, E.S. Avanços da biotecnologia em suínos. **Ciência Animal**. v. 7, 79-88. 1997.
- JOHNSON, L.A.; WEITZE, K.F.; FISER, P.; MAXWELL, W.M.C. Storage of boar semen. **Animal Reproduction Science**. v. 62, 143-172. 2000.
- LEVIS, D.G. Liquid boar semen production: current extender technology and where we go from here. In: JOHNSON, L.A., GUTHRIE, H.D. Eds. Boar Semen Preservation. **Proceedings IV International Conference on Boar Semen Preservation**. Beltsville, Maryland USA, 121-128, 2000.
- MAJUNATH, P.; NAUC, V.; BERGERON, A.; MENARD, M. Major Proteins of bovine seminal plasma bind to the low-density lipoprotein fraction of hen`s egg yolk. **Biology Reproduction**. v.67; p. 1250-1258. 2002.



STATISTIX®, 2013. **Statistix 10 Analytical Software.** Tallahassee, FL, USA.