

Efeito da Gelatina sobre a Viabilidade e Fertilidade do Sêmen Refrigerado de Ovinos Santa Inês

Allan Andrade Rezende¹; Rebeca Santa da Silva²; Anderson Marque Pinto Bandeira³; Hymerson Costa Azevedo⁴; Alexandre Nízio Maria⁵

Resumo

A gelatina é uma proteína polipeptídica de alto peso molecular derivada de uma hidrólise parcial do colágeno. Tem sido utilizada no sêmen refrigerado de ovinos e algumas outras espécies com a finalidade de solidificar o diluidor. Este processo diminui a mobilidade espermática, que por sua vez reduz o gasto de energia dos espermatozóides quando comparado com o diluidor líquido comum e, conseqüentemente, aumenta o seu tempo de sobrevivência. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da gelatina sobre a viabilidade e fertilidade do sêmen refrigerado de ovinos Santa Inês. Os resultados das avaliações *in vitro* do sêmen refrigerado por 48 horas demonstraram porcentagens de espermatozóides com membranas plasmática e acrossomal íntegras maiores ($p < 0,05$) no diluidor contendo gelatina. Não houve influência ($p > 0,05$) da gelatina sobre a integridade das membranas plasmática e acrossomal no sêmen refrigerado por 72 horas e sobre os demais parâmetros avaliados no sêmen refrigerado por 48 e 72 horas. Resultados da avaliação computadorizada da cinética espermática do sêmen refrigerado por 48 horas com gelatina adicionada ao meio diluidor mostram redução ($p < 0,05$) da motilidade progressiva (MP), velocidade em linha reta (VSL), velocidade média do percurso (VAP), retilinearidade (STR) e frequência de batimento flagelar cruzado (BCF). Já no sêmen refrigerado por 72 horas, foi observado que a adição da gelatina ao meio diluidor reduziu ($p < 0,05$) apenas a motilidade total (MT) e progressiva (MT) e a frequência do batimento flagelar cruzado (BCF). Na análise *in vivo*, a adição da gelatina ao meio diluidor não influenciou ($p > 0,05$) a taxa de prenhez: 26,1% (12/46) vs. 11,1% (5/45) e

^{1,2} Discente em Medicina Veterinária, Bolsista Iniciação Científica Embrapa/FAPITEC, Aracaju, SE, allan_a.rezende@hotmail.com

³ Mestre em Biotecnologia, Universidade Federal de Sergipe.

⁴ Médico Veterinário, Doutor, Pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, hymersonazevedo@embrapa.br.

⁵ Zootecnista, Doutor, Pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, alexandrenizio@embrapa.br.

4,4% (2/45) vs. 13,0% (6/46) no sêmen refrigerado por 48 e 72 horas para o grupo tratado e controle, respectivamente.

Palavras-chave: solidificação, diluidor, energia, motilidade, espermatozóides.

Introdução

O sêmen pode ser conservado resfriado, quando for utilizado em um curto espaço de tempo, ou pode ser congelado em nitrogênio líquido, o que favorece a sua conservação por um longo período de tempo (NUNES, 1998). A utilização de sêmen resfriado, nas rotinas de inseminação artificial, apresenta vantagens práticas e econômicas sobre o sêmen congelado além de propiciar melhores índices de fertilidade (MAXWELL et al., 1996).

O diluidor com gelatina, mesmo após a refrigeração, volta ao estado líquido em temperaturas próximas àquelas naturalmente observadas no corpo da ovelha, facilitando o deslocamento dos espermatozóides para dentro do trato reprodutivo da fêmea. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da gelatina sobre a viabilidade e fertilidade do sêmen refrigerado de ovinos Santa Inês.

Material e Métodos

O experimento foi realizado nas instalações da Embrapa Tabuleiros Costeiros localizadas no Município de Frei Paulo-SE (Campo Experimental Pedro Arle-CEPA) e na Cidade de Aracaju-SE (Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal).

Foram utilizados seis carneiros adultos com mais de 12 meses de idade, aprovados após uma série de exames clínico andrológicos segundo normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (HENRY et al., 1998) e 180 ovelhas acima de 35 Kg de peso vivo (P.V.), ambos da raça Santa Inês, em bom estado clínico e nutricional e sem histórico de problemas reprodutivos e sanitários.

Amostras de sêmen refrigerado a 48 e 72 horas foram avaliadas quanto à motilidade, vigor, morfologia espermática em câmara úmida, viabilidade espermática pela coloração da eosina-nigrosina (BARTH et al., 1989) e quanto à integridade das membranas plasmática e acrossomal, realizada sob microscopia epifluorescente, pela associação de diacetato de carboxifluoresceína e iodeto de propídio (HARRISON et al., 1990). Utilizando-se o sistema computadorizado (Sperm Class Analyzer - SCA^{®2}), alíquotas de sêmen refrigerado foram avaliadas também quanto à cinética sendo mensurados os seguintes parâmetros

espermáticos: motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %), velocidade média do percurso (VAP, $\mu\text{m/s}$), velocidade em linha reta (VSL, $\mu\text{m/s}$), velocidade curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$), deslocamento lateral da cabeça (ALH, μm), frequência de batimento flagelar cruzado (BCF, Hz), retilinearidade (STR, %) e linearidade (LIN, %).

O sêmen refrigerado *in vivo* foi analisado pela mensuração da fertilidade à inseminação artificial. As ovelhas submetidas previamente a protocolos de indução, sincronização do estro e da ovulação, foram divididas aleatoriamente de acordo com os tratamentos. Em seguida, as fêmeas foram inseminadas pela técnica de inseminação artificial transcervical em tempo fixo (IATCTF) segundo procedimentos descritos por Matos et al., 2008.

Resultados e Discussão

Os resultados das avaliações *in vitro* do sêmen refrigerado como motilidade espermática subjetiva, viabilidade espermática, integridade das membranas plasmática e acrossomal e integridade morfológica do acrossomo estão apresentados na Tabela 1. Após 48 h sob refrigeração, as porcentagens de espermatozoides com membrana plasmática íntegra e membrana acrossomal íntegra foram maiores ($p < 0,05$) para o sêmen diluído com gelatina quando comparado ao controle. Não houve influência ($p > 0,05$) da gelatina sobre as integridades das membranas plasmática e acrossomal no sêmen refrigerado por 72 horas e sobre os demais parâmetros avaliados no sêmen refrigerado por 48 e 72 horas.

Tabela 1. Avaliação in vitro (média \pm desvio padrão) do sêmen de ovinos Santa Inês tratado com gelatina e refrigerado por 48 e 72 horas.

Parâmetros	Meio Diluidor	Período de Refrigeração (horas)	
		48	72
Motilidade espermática subjetiva (ME, %)	Controle	76,5 \pm 6,0	75,6 \pm 5,4
	Gelatina	77,5 \pm 5,9	76,7 \pm 6,2
Viabilidade espermática (VE, %)	Controle	83,7 \pm 9,8	76,7 \pm 10,7
	Gelatina	82,2 \pm 10,2	76,5 \pm 14,0
Integridade da membrana plasmática (IMP, %)	Controle	72,4 \pm 13,9b	69,9 \pm 15,0
	Gelatina	77,3 \pm 13,4a	69,5 \pm 16,4
Integridade da membrana acrossomal (IMAC, %)	Controle	81,9 \pm 10,3b	79,9 \pm 11,6
	Gelatina	85,6 \pm 9,3a	81,5 \pm 11,4
Integridade morfológica do acrossomo (IMA, %)	Controle	96,7 \pm 2,9	96,6 \pm 3,5
	Gelatina	96,2 \pm 3,2	95,9 \pm 3,4

Médias seguidas por letras distintas, dentro de cada parâmetro e período de refrigeração, indicam diferenças significativas entre meios diluidores ($P < 0,05$)

Conclusões

Conclui-se que a adição da gelatina melhora alguns aspectos da integridade de células espermáticas refrigeradas por 48 horas, porém não melhora a fertilidade do sêmen ovino refrigerado após 48 ou 72 horas. A adição da gelatina não melhora a qualidade e fertilidade do sêmen ovino refrigerado por 72 horas. Apesar da adição da gelatina ter provocado prejuízos na cinética espermática do sêmen refrigerado por 48 e 72 horas, estes efeitos não se refletiram em diminuição da fertilidade à inseminação artificial.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Biotecnologias da Reprodução Animal da Embrapa Tabuleiros Costeiros, ao CNPq e à FAPITEC.

Referências

BARTH, A.D.; OKO, R. J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa**. Iowa State Ames: University Press, 1989. 285p.

HENRY, M.; NEVES, J. P. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2ª edição. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1998.

HERNÁNDEZ, P. J.; FERNÁNDEZ, R. F.; AVALOS, R. A.; DÍAZ, B. R. Efecto de la adición de gelatina a semen de conejo almacenado a 12° C. **Revista de Salud Animal**, v.26, n°3, p.197-201, 2004. MAXWELL, W. M. C.; WATSON, P. F. Recent progress in the preservation of ram semen. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.55-65, 1996.

NUNES, J. F. Utilização da água de coco como diluidor do sêmen de animais e do homem. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.22, n.2, p.109-12, 1998.