

Efeito de diferentes diluidores de criopreservação espermática e do estro na prenhez de vacas submetidas à inseminação artificial em tempo fixo

Lucas Silva Gomes⁽¹⁾, Jessica de Souza Andrade⁽²⁾, Vanessa Lemos de Souza⁽³⁾, George Moreira da Silva⁽⁴⁾ e Luiz Francisco Machado Pfeifer⁽¹⁾

⁽¹⁾ Estudante de graduação da Faculdades Integradas Aparício Carvalho, bolsista na Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO

⁽²⁾ Biomédica, doutora em Biotecnologia e Biodiversidade, bolsista na Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO

⁽³⁾ Zootecnista, mestre em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente, estudante de doutorado da Rede Bionorte, bolsista na Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO

⁽⁴⁾ Médico-veterinário, autônomo, Porto Velho, RO

⁽⁵⁾ Pesquisador, Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO

Resumo – O objetivo desse estudo foi avaliar a relação entre a expressão de cio de vacas e o diluidor utilizado na criopreservação do sêmen na taxa de concepção de vacas *Bos indicus* submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Nesse estudo, 480 vacas da raça Nelore pós-parto foram submetidas a um protocolo de IATF. As vacas foram divididas de acordo com a expressão de estro até 48 horas após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona em: vacas em estro (E, n = 284) e sem estro (SE, n = 196). O sêmen utilizado para inseminar as vacas dos grupos E e SE foi congelado com dois diluidores diferentes: Optixcell (OP) e o Tris-Glicerol-gema de ovo (TG). Dessa forma, os grupos experimentais foram EOP, ETG, SEOP e SETG. A taxa de prenhez dos grupos EOP e ETG foi maior ($P < 0,02$) em comparação a dos grupos SEOP e SETG. Baseado nesses dados, vacas que expressaram estro tiveram maior taxa de prenhez e o diluidor utilizado na congelamento do sêmen não influenciou a taxa de prenhez, independentemente da expressão de estro.

Termos de indexação: capacitação espermática, cio, sêmen.

Effect of different sperm and estrus cryopreservation extenders on pregnancy in cows submitted to TAI

Abstract – The objective of this study was to evaluate the relationship between estrus behavior of cows and the semen's cryopreservation extenders on the fertility in *B. indicus* cows subjected to Timed Artificial Insemination (TAI) protocols. In this study, 480 postpartum *B. indicus* beef cows were enrolled in a TAI program. The cows were separated into groups according to the estrus detection on the Day of the TAI procedure, into: Cows detected in estrus (E, n = 284), and cows not detected in estrus (NE, n = 196). The semen used to inseminate those cows was cryoprotected with two different extenders: Optixcell (OP), and the egg yolk tris glycerol (TG). Therefore, the experimental groups were: EOP, ETG, NEOP, and NETG. The pregnancy per AI (P/AI) of the groups EOP e ETG was greater ($P < 0.02$) in comparison with P/AI of the groups NEOP, and NETG. Based on these results, cows that detected in estrus had greater P/AI, and the extenders used to cryopreserve the semen did not affect fertility of *B. indicus* beef cows subjected to TAI protocols, independently of the estrus.

Index terms: sperm capacitation, estrus, semen.

Introdução

Estudos vêm sendo desenvolvidos sobre os efeitos de diluidores de sêmen de touros na taxa de concepção de vacas inseminadas (Vishwanath; Shannon, 2000). Os diluidores a base de tris-glicerol e gema de ovo (TG) têm sido frequentemente utilizados como crioprotetor não permeável para criopreservação de sêmen em bovinos. Diluidores sintéticos, como o Optixcell (OP), também são utilizados na criopreservação de sêmen bovino. Quando comparados, Ansari et al. (2016) observaram que o OP é mais eficiente para conservar a qualidade pós-descongelamento do sêmen de búfalos.

Ainda que os sêmens congelados com ambos diluidores tenham registrado adequada fertilidade, cada um pode influenciar nas características da cinética espermática pós-descongelamento de forma diversa. O grau de hiperatividade espermática e o momento da ovulação afetam a fertilidade de vacas (Pfeifer et al., 2019). Além disso, observamos também que vacas em cio apresentam ovulação mais precoce em relação às vacas que não expressam cio (no prelo). Esses dados indicam que a manifestação de cio pode ser um fenótipo que pode ser utilizado para estimar a proximidade de ovulação.

Baseado nessas considerações, o objetivo desse estudo é avaliar a relação entre os diluidores utilizados na criopreservação espermática e o cio na fertilidade de vacas pós-parto submetidas à inseminação artificial em tempo fixo.

Material e métodos

Foram utilizadas 480 vacas Nelore (*Bos indicus*), pós-parto, escore de condição corporal (ECC) entre 2,5 e 3,5. As vacas eram mantidas em pastagem de *Brachiaria brizantha* com livre acesso a água e sal mineral.

Os animais foram submetidos ao seguinte protocolo hormonal: Dia 0 (D0) inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (DIP) e 2 mg de benzoato de estradiol (BE). No Dia 8 (D8) os DIPs foram removidos e foi aplicado 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG), 150 µg de d-cloprostenol (PGF) e 1 mg de cipionato de estradiol (CE). Os animais foram marcados com um bastão de cera na região da garupa para identificação de manifestação de estro (remoção de $\geq 75\%$ da tinta) no momento da IATF.

As vacas foram divididas em dois grupos de acordo com a expressão de estro (E = estro, SE = sem estro), e cada um desses grupos foi dividido em subgrupos associados com sêmen de dois touros. O grau de hiperativação espermática nas amostras de sêmen foi avaliado utilizando os valores médios de amplitude de deslocamento lateral (ALH), linearidade (LIN) e velocidade curvilínea (VCL) de acordo com a tabela 1, com partidas diluídas (Tris-glicerol-gema de ovo: TG e Optixcell: OP) formando quatro grupos: EOP (n = 150), ETG (n = 134), SEOP (n = 128) e SETG (n = 68).

Trinta dias após a IATF foi realizado o diagnóstico de gestação através de ultrassonografia transretal (SIUI® CTS-900, China). As variáveis qualitativas foram analisadas pelo teste qui-quadrado.

Resultados e discussão

Os resultados da análise espermática demonstraram que o sêmen com diluidor comercial OP apresenta característica de maior hiperativação, enquanto que o sêmen diluído com TG apresenta menor grau de hiperatividade (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de esperma assistida por computador (CASA), de lotes de espermatozoides com diferentes características cinemáticas.

Touro	Tipo de diluidor	ALH (µm) ⁽¹⁾	LIN (%) ⁽²⁾	VCL (µm /s) ⁽³⁾	Grau de hiperatividade
A	TG	7,4	50,2	154,2	H-
A	OP	8,9	46,2	195,5	H+
B	TG	5,9	55,0	135,8	H-
B	OP	7,6	48,3	167,8	H+

⁽¹⁾ ALH: amplitude de deslocamento lateral da cabeça;

⁽²⁾ LIN: linearidade;

⁽³⁾ VCL: velocidade curvilínea.

A proporção de vacas prenhes inseminadas com sêmen OP e TG, diante da expressão de estro, está ilustrada na Figura 1. As vacas do grupo ETG apresentaram uma maior prenhez por IA (P/IA; $P \leq 0,05$) do que as vacas dos grupos SEOP e SETG. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) na P/IA entre as vacas dos grupos EOP e SEOP. Em contraste, as vacas do grupo EOP tiveram uma P/IA superior ($P \leq 0,05$) em comparação com as vacas do grupo SETG (Figura 1).

Os resultados do estudo indicam que as vacas que expressam estro entre a remoção do DIP e o momento da IATF apresentam melhor taxa de concepção do que vacas que não exibiram estro. Entretanto, não foi confirmada a hipótese de que a associação entre o diluidor de sêmen, os quais resultam em diferentes graus de hiperativação espermática, e a expressão de estro, aumentaria a taxa de prenhez em vacas submetidas a programas de IATF.

Neste estudo, o grau de hiperativação espermática nas amostras de sêmen foi avaliado utilizando os valores médios de ALH, LIN e VCL. Pesquisas anteriores analisaram essas variáveis cinemáticas (Araya-Zúñiga et al., 2023) e os atributos de hiperativação do sêmen de touros congelado-descongelado (Schmidt; Kamp, 2004; Shojaei et al., 2012). Shojaei et al. (2012) encontraram uma correlação significativa entre essas variáveis cinemáticas e as características de hiperativação do sêmen de touros congelado-descongelado.

Era esperado que vacas que expressaram estro e foram inseminadas com sêmen diluído em OP apresentassem taxas de prenhez mais elevadas do que vacas em estro inseminadas com sêmen diluído em TG. Apesar de diferenças na cinética espermática entre lotes de sêmen diluídos em OP e diluídos em TG, essas diferenças não foram tão expressivas quanto às observadas em um estudo anterior (Pfeifer et al., 2019).

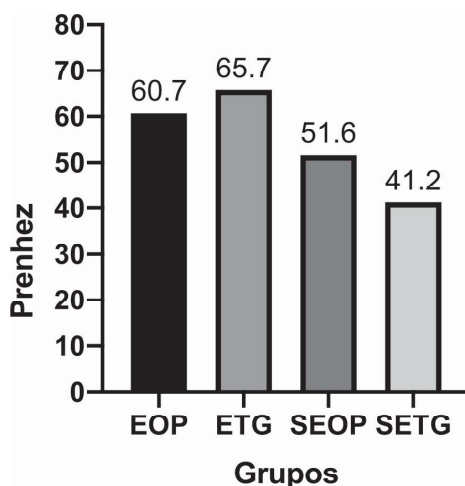


Figura 1. Prenhez por IA em vacas de corte pós-parto de acordo com a expressão de estro comparado ao sêmen em diferentes diluidores. ^{ABC} Letras diferentes indicam efeito entre grupos ($P < 0,05$).

Com isso, podem surgir dúvidas de que a cinemática dos lotes de sêmen diluídos em OP e diluídos em TG não seja suficiente para resultar no aumento de taxas de prenhez em vacas submetidas à IATF. Desta forma, são necessários novos estudos com um número maior de animais e mais touros com cinética espermática variada para, assim, conseguir elucidar a relação entre expressão de estro com a utilização de diferentes diluidores de sêmen em vacas incluídas em programas de IATF.

Conclusão

Vacas que expressaram estro apresentaram maior prenhez na IATF. A utilização de diferentes diluidores não influenciou na taxa de prenhez das vacas independentemente da manifestação do estro.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da bolsa, obtida pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq).

Referências

- ANSARI, M. S.; RAKHA, B. A.; AKHTER, S.; ASHIQ, M. OPTIXcell improves the postthaw quality and fertility of buffalo bull sperm. *Theriogenology*, v. 85, p. 528–532, 2016.
- ARAYA-ZÚÑIGA, I.; SEVILLA, F.; MOLINA-MONTERO, R.; ROLDAN, E. R. S.; BARRIENTOS-MORALES, M.; SILVESTRE, M. A.; VALVERDE, A. Kinematic and Morphometric Assessment of Fresh Semen, before, during and after Mating Period in Brahman Bulls. *Animals*, v. 14, n. 1, p. 132, 2023;
- DAVIES, B. K. Timing of fertilization in mammals: sperm cholesterol/ phospholipid ratio as a determinant of the capacitation interval. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, v. 78, p. 7560- 7564, 1981.
- PFEIFER, L. F. M.; JÚNIOR, J. S. O; POTIENS, J. R. Effect of sperm kinematics and size of follicle at ovulation on pregnancy rate after timed AI of beef cows. *Animal Reproduction Science*, v. 201, p. 55–62, 2019.
- SCHMIDT, H.; KAMP, G. Induced hyperactivity in boar spermatozoa and its evaluation by computer-assisted sperm analysis. *Reproduction*, v. 128, n. 2, p. 171-179, 2004.
- SHOJAEI, H.; KROETSCH, T.; WILDE, R.; BLONDIN, P.; KASTELIC, J. P.; THUNDATHIL, J. C. Moribund sperm in frozen-thawed semen, and sperm motion end points post-thaw and post-swim-up, are related to fertility in Holstein AI bulls. *Theriogenology*, v. 77, n. 5, p. 940-51, 2012.
- VISHWANATH, R.; SHANNON, P. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Animal Reproduction Science*, v. 62, p. 23-53, 2000.