

# AVALIAÇÃO DO SÊMEN FRESCO E PÓS-CONGELADO DE OVINOS DA RAÇA MORADA NOVA NA REGIÃO SEMI ÁRIDA DO NORDESTE<sup>1</sup>

Nadiana Maria Mendes Silva<sup>2</sup>, Ângela Maria Xavier Eloy<sup>3</sup>, João Ricardo Furtado<sup>4</sup>, Andréa Zilá Barroso de Sousa<sup>5</sup>, Nágila Mendes Silva<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Parte da Dissertação do primeiro autor, financiada pela EMBRAPA Caprinos e Ovinos

<sup>2</sup>Aluna do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UVA/EMBRAPA Caprinos e Ovinos, Sobral-Ce. e-mail: nadiana.mendes@gotmail.com

<sup>3</sup>Pesquisadora EMBRAPA Caprinos e Ovinos. angela@cnpc.embrapa.br

<sup>4</sup>Assistente de Pesquisa EMBRAPA Caprinos e Ovinos. ricardo@cnpc.embrapa.br

<sup>5</sup>Aluna do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFERSA, Mossoró-RN. E-mail: andreazila@hotmail.com

<sup>6</sup>Aluna de Graduação do Curso de Biologia da UVA, Sobral-Ce. E-mail: nagingha\_mendes@hotmail.com

**Resumo:** A criopreservação de sêmen permite o armazenamento de material genético por tempo indeterminado, transmitindo características desejáveis. Após o processo de congelação/descongelação ocorre uma redução da taxa de fertilidade relacionada, principalmente, aos danos causados às estruturas e propriedades bioquímicas da membrana dos espermatozóides, podendo comprometer os processos de capacitação espermática e a reação acrossomal. Em relação à espécie ovina e mais precisamente a raça Morada Nova pouco se encontra na literatura trabalhos relacionados aos efeitos do congelamento no sêmen desses animais. Foram utilizados quatro animais onde se coletou o sêmen semanalmente no período mais seco do ano (outubro e novembro/2008) com o objetivo de relacionar as avaliações do sêmen fresco e pós-congelamento de ovinos da raça Morada Nova durante a época mais seca do ano na região semi-árida do Nordeste brasileiro.

**Palavras-chave:** eletroforese, criopreservação, proteínas seminais

## Introdução

A utilização da criopreservação de sêmen juntamente com a inseminação artificial vem se destacando como importantes ferramentas para o melhoramento genético de várias espécies animais. A criopreservação de sêmen permite o armazenamento de material genético por um período de tempo ilimitado, transmitindo características de animais de alto valor genético através de gerações e mesmo após a morte do animal, reduzindo custos com aquisição e transporte de reprodutores, minimizando a possibilidade de introdução de doenças transmissíveis via sêmen e a propagação de doenças sexualmente transmissíveis nos rebanhos (Traldi, 1994). Entretanto, a viabilidade e a fertilidade dos espermatozóides após o descongelamento, são prejudicadas em consequência dos danos causados durante a criopreservação.

Após o processo de congelação e descongelamento ocorre uma redução da taxa de fertilidade relacionada principalmente, aos danos causados às estruturas e propriedades bioquímicas da membrana dos espermatozóides, podendo comprometer os processos de capacitação espermática e a reação acrossomal (PARKS e GRAHAM, 1992). Logo, é importante a utilização de testes laboratoriais para avaliação seminal quando se avaliam a fertilidade. Atualmente, os métodos mais utilizados para bovinos e ovinos são a avaliação da motilidade, do vigor e os testes de termorresistência. Com isso, este trabalho teve como objetivo relacionar as avaliações do sêmen fresco e pós-congelado, bem como sua relação com as proteínas encontradas nos géis de eletroforese dos ovinos da raça Morada Nova no período mais seco na região semi-árida do Nordeste.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Caprinos e Ovinos, em Sobral, Ceará, na região Norte, em pleno semi-árido, a 3°42' de latitude Sul e 40°21' de longitude Oeste, e uma altitude de 83 metros. A temperatura média anual é de 28°C, com médias, mínima e máxima, de 22°C e 35°C, respectivamente, e umidade relativa do ar de 69%.

Foram utilizados quatro machos da Raça Morada Nova, em idade reprodutiva, variando de 18 a 21 meses, submetidos a regime de criação semi-intensivo.

O sêmen foi colhido semanalmente em vagina artificial, no período mais seco do ano (outubro e novembro/2008). O sêmen fresco foi avaliado quanto à concentração, aspecto, volume, motilidade e vigor e em seguida, o diluído como preconizado por Evans e Maxwell (1990), contendo Tris, glicose, ácido cítrico, gema de ovo, glicerol e penicilina-estreptomina. A congelação será realizada em

sistema automatizado, denominado TK-3000, em palhetas plásticas com capacidade para 0,25 mL. Após o congelamento/descongelamento fez-se uma nova avaliação física do sêmen constituída da motilidade e vigor.

As análises de proteínas totais foram realizadas através do método descrito por Bradford (1976) e os géis da eletroforese Unidimensional SDS PAGE usando-se o software Doc-IT-LS<sup>®</sup> 6.0. Para comparação das médias das variáveis volume do ejaculado, motilidade, concentração espermática e proteínas totais entre os meses estudados foi realizada análise de variância e o teste F à 5%, usando-se o software Excel.

## Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que não houve diferença estatística ( $P>0,05$ ) quanto a motilidade, vigor, concentração e volume do ejaculado do sêmen fresco para os meses de outubro e novembro. Também não houve diferença ( $P>0,05$ ) ao quantificarmos as proteínas do plasma seminal no período estudado. A motilidade e o vigor após congelação/descongelação foram de 30% e 2,75 no mês de outubro e 47,14% e 3 em novembro, respectivamente, não apresentando diferença estatística ( $P>0,05$ ). Quando comparou-se o sêmen fresco e o congelado/descongelado, observou-se diferença estatística ( $P<0,05$ ) quanto a motilidade e o vigor.

Encontramos nos géis de eletroforese proteínas de baixo peso molecular (14-15 kDa), provavelmente a espermedesina, uma glicoproteína associada à superfície do espermatozóide de vários animais domésticos como suínos, bovinos, eqüinos e caprinos (Tedesthi et al, 2000). Segundo Villemure et al. (2003) e Jobim et al., (2003) essas proteínas encontram-se envolvidas na manutenção da motilidade espermática em caprinos e se ligam à membrana espermática durante o trânsito epididimário, atuando na capacitação espermática de caprinos. Já Souza et al. (2008), relacionaram essas proteínas aos valores encontrados de motilidade progressiva iguais a 81,3% e 79,8% também em caprinos, valores esses semelhantes aos encontrados em sêmen fresco nesse trabalho (88,57%).

Observou-se diferença estatística ( $P<0,05$ ) quanto a motilidade pós congelação entre os meses de outubro e novembro, o mesmo não acontecendo quanto ao vigor. Na análise dos géis obsevou-se a presença de uma proteína com peso molecular de 26kDa no mês de outubro. De acordo com Bianchi et al, (2008) essa proteína está relacionada à baixa integridade da membrana plasmática dos espermatozoides em suínos após a congelação/descongelação e, segundo Jobim (2009) a mesma foi encontrada em bovinos portadores de baixa congelabilidade. Provavelmente esta proteína esteja relacionada ao valor inferior de motilidade (30%) em relação ao mês de novembro (47,14%).

## Conclusões

A proteína de peso molecular de 26 kDa pode ter reduzido a motilidade progressiva pós-congelação durante o mês de outubro;

A utilização da eletroforese é uma ferramenta que pode auxiliar na identificação de animais doadores de sêmen;

## Literatura citada

BIANCHI, I. et al. Fator do plasma seminal associado à integridade de membrana de espermatozoides suínos pós-descongelamento. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.60, n.2, Abr. 2008. Acessado em: 15 jul 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352008000200017&script=sci\\_arttext&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352008000200017&script=sci_arttext&lng=en)>

BRADFORD, M. M. A rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analalytical Biochemistry** **72**, 248-254, 1976.

JOBIM, M. I. M., Perfil eletroforético das proteínas do plasma seminal e sua relação com a congelabilidade do sêmen bovino. <[http://coralx.ufsm.br/ppgmv/RESUMOS\\_DOC\\_2001.pdf](http://coralx.ufsm.br/ppgmv/RESUMOS_DOC_2001.pdf)> Acessado em : disponível em: 22 jun 2009.

JOBIM, M.I.M. et al. Proteínas de baixo peso molecular do plasma seminal bovino relacionadas com a congelabilidade do sêmen através de eletroforese bidimensional em gel de poliácridamida. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, n.1, p.21- 30, 2003.

VILLEMURE, M. et al. Isolation and characterization of gelatine-binding proteins from goat seminal plasma. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.1, p.39, 2003.

PARKS, J.E.e GRAHAM, J.K. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. **Theriogenology**, v.38, p.209-222, 1992.

TRALDI, A.S. Tópicos em reprodução e I.A. em caprinos – **Manual técnico**. Texto apostilado, 1994.

TEDESTHI G., OURGE E, MORTARINO M., NEGRI A. & RONCHI S. Purufucation and primary structure of a espermadhesin. **European Journal of Biochemistry**, 20, 6175-6179, 2000.