



**15<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
24 e 25 de agosto de 2011  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA**

**AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE A CAMPO DE SÊMEN BUBALINO CONGELADO COM ANTIOXIDANTES: RESULTADOS PRELIMINARES PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO**

Jakeline dos Santos Pessoa<sup>1</sup>, Alexandre Rossetto Garcia<sup>2</sup>, Benjamim de Souza Nahúm<sup>2</sup>,  
Sâmia Rubielle Silva de Castro<sup>3</sup>, Alessandra Ximenes Santos<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica de Medicina Veterinária UFRA/Belém, PA. (Bolsista FAPESPA). E-mail: jakelinepessoa@hotmail.com

<sup>2</sup> Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental. E-mail: argarcia@cpatu.embrapa.br

<sup>3</sup> Docente das Faculdades Integradas do Tapajós.

<sup>4</sup> Acadêmica do Programa de PG em Ciência Animal UFPA/Embrapa/UFRA.

**Resumo:** A avaliação da fertilidade a campo de sêmen congelado com antioxidantes foi realizada através do uso da IATF. Foram utilizadas 23 fêmeas cíclicas das raças Murrah e Mediterrâneo, com idade e peso médio de  $(4,87 \pm 2,60$  anos e  $528,5 \pm 113,4$  kg), divididas em dois grupos (CONT, n=13 e VIT/PENTOX, n=10), sincronizadas com protocolo Ovsynch e inseminadas seguindo o mesmo procedimento de descongelamento seminal para ambos os grupos. O Grupo CONT foi inseminado com sêmen congelado à base de diluidor TES-TRIS e para o Grupo VIT/PENTOX foi utilizado sêmen criopreservado com diluidor TES-TRIS associado aos antioxidantes (vitamina C: 2,5 mM; pentoxifilina: 3,5 mM). O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia, 56 dias após a IATF. Para a comparação das taxas de concepção foi utilizado o teste binomial ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença significativa na taxa de concepção (38,5% e 30,0%) entre os Grupos CONT e VIT/PENTOX, respectivamente. O uso de antioxidante no sêmen congelado não foi suficiente para elevar as taxas reprodutivas, visto que as taxas de concepção entre os grupos não diferiram.

**Palavras-chave:** Antioxidante, búfalo, fertilidade, sêmen

### **Introdução**

O aumento da produção na espécie bubalina passa pelo melhoramento genético dos animais, sendo fundamental para isso a utilização de ferramentas de reprodução animal assistida. Quando empregadas com critério, diversas tecnologias apresentam impacto positivo na eficiência reprodutiva de rebanhos bubalinos, dentre elas a inseminação artificial em tempo fixo/IATF (GARCIA et al, 2008). Apesar dos avanços obtidos com as biotécnicas utilizadas na reprodução animal, os processos



**15<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA**  
**24 e 25 de agosto de 2011**  
**Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA**

de refrigeração, congelamento e descongelamento de sêmen geram redução da viabilidade e capacidade fecundante dos espermatozoides criopreservados. Em tese, o uso dos antioxidantes no sêmen congelado bubalino pode ser recomendado para aumentar sua potencial fertilidade e maximizar a disseminação de material genético superior (CASTRO, 2010).

Os diluidores seminais e seus constituintes específicos exercem grande influência sobre os padrões de movimento e viabilidade espermática do sêmen pós-descongelamento, representando, assim, um dos principais fatores para a obtenção de altos índices de fertilidade nos programas de IATF (PAPA et al, 2008). Por isso, o presente estudo objetivou avaliar a fertilidade a campo do sêmen bubalino criopreservado com antioxidantes (vitamina C associada à pentoxifilina), após uso em programa de IATF.

### **Material e Métodos**

O sêmen bubalino (*Bubalus bubalis*) foi colhido por vagina artificial, no período de junho a dezembro de 2009, de doadores pertencentes ao rebanho da Embrapa, na Unidade de Pesquisa Animal “Senador Álvaro Adolpho”, em Belém, Pará (1° 25’ S 48° 26’ O). O sêmen foi processado com diluidor TES-TRIS de modo convencional ou com diluidor associado à vitamina C (2,5 mM) e à pentoxifilina (3,5 mM), conforme Castro (2010). Posteriormente, o sêmen foi envasado em palhetas de 0,5 mL (30 x 10<sup>6</sup> spz/palheta) e congelado com uso de equipamento programável (TK 3000®, TK Tecnologia em Congelamento Ltda., Uberaba-MG).

Para o teste de fertilidade a campo foram utilizadas 23 fêmeas cíclicas das raças Murrah e Mediterrâneo, com idade média de 4,87 ± 2,60 anos e peso médio de 528,5 ± 113,4 kg, no período de dezembro de 2010 a fevereiro de 2011. As fêmeas foram divididas aleatoriamente em dois grupos: Grupo Controle (CONT; n=13) e Grupo Tratamento (VIT/PENTOX; n=10) e tiveram ovulação sincronizadas pelo protocolo Ovsynch (100 µg I.M. Lecirelina no D0 e no D9 / 0,530 mg I.M. Cloprostenol no D7). A IATF foi realizada de 16 a 20h após a segunda aplicação de Lecirelina. Os procedimentos de descongelamento seminal e inseminação foram idênticos para ambos grupos. As fêmeas do grupo CONT foram inseminadas com sêmen congelado à base de diluidor TES-TRIS e as fêmeas do VIT/PENTOX foram inseminadas com sêmen criopreservado contendo diluidor TES-TRIS associado aos antioxidantes. As características do sêmen utilizado estão expressas na Tabela 1.

O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia, 56 dias após a realização da inseminação artificial. Para a comparação das taxas de concepção entre grupos, foi utilizado o teste



**15<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA**  
**24 e 25 de agosto de 2011**  
**Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA**

não paramétrico binomial para duas proporções, com nível de significância adotado de 5%. As análises estatísticas foram realizadas com o programa BioEstat 5.0 (Ayres et al, 2007).

Tabela 1 Características pós-descongelamento do sêmen bubalino utilizado para inseminação artificial em tempo fixo em teste de fertilidade a campo\*. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, 2011.

Parâmetros	Grupo CONT	Grupo VIT/PENTOX
Motilidade progressiva (%)	39,5 ± 23,8 <sup>a</sup>	46,9 ± 19,0 <sup>a</sup>
Vigor (0-5)	2,4 ± 0,6 <sup>a</sup>	3,1 ± 0,6 <sup>a</sup>
Integridade de membrana plasmática (%)	62,2 ± 15,9 <sup>a</sup>	57,6 ± 15,9 <sup>a</sup>
Defeitos menores (%)	3,0 ± 2,2 <sup>a</sup>	2,5 ± 2,2 <sup>a</sup>
Defeitos maiores (%)	34,7 ± 15,6 <sup>a</sup>	34,7 ± 18,3 <sup>a</sup>
Defeitos totais (%)	37,7 ± 14,9 <sup>a</sup>	37,5 ± 17,5 <sup>a</sup>

\*Grupo CONT (diluïdor TES-TRIS); Grupo VIT/PENTOX [TES-TRIS associado à vitamina C (2,5 mM) e à pentoxifilina (3,5 mM)].

<sup>a, b</sup> Letras minúsculas nas linhas diferem estatisticamente na ANOVA (P<0,05). Castro (2010).

### Resultados e Discussão

As taxas de concepção obtidas estão demonstradas na Tabela 2. As fêmeas do Grupo CONT apresentaram taxa de concepção de 38,5%, enquanto as matrizes do Grupo VIT/PENTOX tiveram taxa de 30,0% (P>0,05). Uma vez que a adição da pentoxifilina associada à vitamina C tem efeito direto no controle flagelar e esse tratamento eleva a motilidade progressiva do sêmen após o teste de termorresistência (dados não demonstrados), os achados contrariaram a hipótese de que as taxas de concepção difeririam. A taxa de concepção geral das búfalas inseminadas foi de 34,8%. A taxa do Grupo CONT (38,5%) foi inferior àquela apresentada por Garcia et al. (2008), que observaram 50,0% em fêmeas bubalinas inseminadas após o protocolo Ovsynch. Já para o Grupo VIT/PENTOX, a taxa foi de 30,0%, inferior aos resultados de Zanella et al. (2010) em bovinos, que obtiveram taxa de prenhez 40,0% no grupo inseminado com sêmen tratado com antioxidantes. Aspectos relacionados à capacitação espermática ou ao ambiente intrauterino podem ter influenciado nos resultados obtidos, o que sugere a importância de se ampliar os estudos sobre fertilidade seminal a campo.

Tabela 2 Taxa de concepção (%) de fêmeas bubalinas inseminadas em tempo fixo com sêmen congelado\*. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, 2011.

Condição	CONT (n=13)	VIT/PENTOX (n=10)	Total
Gestantes (%)	38,5 <sup>a</sup> (5/13)	30,0 <sup>a</sup> (3/10)	34,8 (8/23)
Não-gestantes (%)	61,5 (8/13)	70,0 (7/10)	65,2 (15/23)

\*Grupo CONT (diluïdor TES-TRIS); Grupo VIT/PENTOX [TES-TRIS associado à vitamina C (2,5 mM) e à pentoxifilina (3,5 mM)].

<sup>a, b</sup> Letras minúsculas nas linhas diferem estatisticamente no teste binomial (P<0,05).



**15<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
24 e 25 de agosto de 2011  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA**

**Conclusões**

Pôde-se concluir que o uso de antioxidante no sêmen congelado não foi suficiente para elevar as taxas reprodutivas de fêmeas inseminadas em tempo fixo, visto que a concepção entre grupos não diferiu. Contudo, esses resultados são baseados em dados preliminares e com número reduzido de animais, devendo-se, portanto, ampliar o número de matrizes inseminadas a campo para incremento na acurácia das informações.

**Agradecimentos**

À Embrapa Amazônia Oriental (Projeto 01.07.01.02.09) pelo apoio financeiro e à FAPESPA (Processo 2010/180661) pela concessão de bolsa de iniciação científica.

**Referências Bibliográficas**

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. BioEstat 5.0 – **Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biomédicas**. Belém, Pará, Brasil, 364p. 2007.

CASTRO, R.S.R. **Uso de antioxidantes para elevação da qualidade do sêmen criopreservado de búfalos (*bubalus bubalis*)**. 2010. 71p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Belém, Pará. 2010.

GARCIA, A.R.; NAHÚM, B.S.; LOURENÇO JUNIOR, J.B.; COSTA, N.A; GONÇALVES, K.S; MIYASAKI, M.Y.A; ANDRADE, A.F.C.; ARRUDA, R.P. **Associação da medroxiprogesterona ao protocolo Ovsynch para inseminação artificial em tempo fixo de búfalas cíclicas (*Bubalus bubalis*) criadas na Amazônia Oriental**; Acta Amazonica, v. 38, 2008.

PAPA, F.O.; CRESPILO, A.M.; FREITAS DELL`AQUA, C.P.; DELL`AQUA JR, J.A. **Impacto do sêmen no sucesso dos programas de IATF: métodos básicos e avançados de avaliação**. Biotecnologia da reprodução em bovinos (3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada) Londrina, PR. P. 78-94. 2008.

ZANELLA, R.; BONDAN, C.; SOARES, J.C.M.; ZANELLA, E.L.; LIMA, M.R. **Uso de antioxidantes para melhorar a eficiência reprodutiva de rebanho bovino submetido a protocolo de sincronização com progesterona (p4)**. Ci. Anim. Bras., v. 11, n. 3, p. 477-481, 2010.