

CORRELAÇÕES ENTRE PARÂMETROS SEMINAIS DE TOUROS BUBALINOS EM CENTRAL DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Correlations between seminal parameters of buffaloes bulls in artificial insemination center

ABSTRACT

This study aimed to investigate the correlation between seminal parameters of buffaloes bulls (*Bubalus bubalis*) in order to estimate its viability. Semen from 10 bulls adults were collected weekly (n=290). After collection the semen was subjected to analysis of progressive motility (MP%), major defects (DMA%), minor defects (DME%), total defects (DT%) and plasma membrane integrity (% IMP). We observed significant positive correlation of average intensity between IMP and MP ($r=0.56$, $P<0.0001$), being that IMP was negatively influenced by DME ($r=-0.25$, $P<0.0001$). The DT were strongly correlated with DMA ($r=0.94$, $P<0.0001$). Curiously the DMA presented low positive correlation with IMP ($r=0.18$, $P=0.002$) and negative with DME ($r=-0.21$, $P=0.0004$). The results indicate that the analysis of the correlation between bull seminal parameters can be used as complementary criterion for estimating sperm viability.

Keywords: semen, viability, buffaloes.

Palavras-chave: sêmen, viabilidade, bubalino.

INTRODUÇÃO

Os métodos de avaliação seminal utilizados em centrais de colheita e processamento de sêmen consistem basicamente em análises físico-químicas dos ejaculados, que envolvem, entre outros aspectos, a avaliação subjetiva do movimento de massa, da motilidade espermática, concentração do ejaculado, morfologia celular e, por vezes, da integridade de membranas plasmática (IMP) e acrossomal (1). A análise da morfologia espermática permite a eliminação de touros com baixo potencial de fertilidade, evitando a entrada desses animais em programas de congelamento de sêmen (2), pois sabe-se que defeitos específicos na morfologia estrutural dos espermatozoides correlacionam-se com a sub e infertilidade do macho (3). Estudando-se os limites de patologia espermática, utilizou-se 191 partidas de sêmen bovino e verificou-se significativa correlação negativa entre fertilidade e defeitos totais ($r=-0,48$) e maiores ($r=-0,51$), e correlação negativa entre fertilidade e defeitos menores ($r=-0,16$) (4). A correlação entre morfologia espermática e fertilidade apresenta-se bastante variável ($r=0,06$ a $0,86$) (5). A morfologia é considerada o aspecto isolado que mais se relaciona com a viabilidade e a fertilidade (6).

Outra característica importante associada ao potencial de fertilidade é a avaliação do movimento espermático de uma amostra, observando-se clara associação entre a ausência de movimento e os quadros de infertilidade (7). Foi observada correlação entre a motilidade pós-descongelamento e a fertilidade ($r=0,53$; $P<0,01$), com diferença significativa entre touros de baixa ($r=0,39$; $P<0,01$) e alta ($r=0,61$; $P<0,01$) fertilidade, indicando que essa diferença é devida às variações na qualidade e viabilidade dos espermatozoides (8). As correlações entre fertilidade e motilidade variam consideravelmente ($r=0,12$ a $0,84$) (9). Por isso, em termos práticos, a motilidade representa a principal análise laboratorial utilizada pelas centrais (10). Já a avaliação das membranas espermáticas é um indicador importante do sucesso da criopreservação, uma vez que sua estrutura é extremamente sensível às crioinjúrias, as quais são responsáveis pela queda na viabilidade espermática (11). O número de espermatozoides viáveis expressos por meio da IMP correlaciona-se positivamente com a fertilidade ($r=0,68$) de touros (12).

De forma geral, a avaliação destes parâmetros é capaz de prever a viabilidade do sêmen de touros em centrais de colheita e processamento de sêmen. Por isto, neste trabalho objetivou-se investigar a correlação entre os parâmetros seminais de bubalinos, a fim de estimar sua viabilidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 bubalinos (*Bubalus bubalis*) adultos (2,5-5,0 anos, peso médio de 700,3 kg). Os animais foram mantidos em baias na Central de Biotecnologia de Reprodução Animal (CEBRAN/UFGA), em Castanhal, Pará ($1^{\circ}18'00''$ Sul e $47^{\circ}56'00''$ Oeste). O sêmen foi coletado semanalmente durante 9 meses, sendo realizadas 29 repetições por animal ($n=290$). Após a coleta, o sêmen foi submetido às análises de motilidade progressiva (MP%), defeitos maiores (DMA%), defeitos menores (DME%), defeitos totais (DT%) e integridade da membrana plasmática (IMP%). A avaliação da motilidade foi realizada mediante a deposição de uma gota de sêmen sobre lâmina aquecida (35 a 37°C), recoberta por lamínula. O exame foi efetuado em microscópio de contraste de fase, com aumento de 200X. A análise da morfologia foi feita a partir de alíquotas pré-fixadas em formol salino, e montadas preparações úmidas para análise em microscopia de contraste de fase (1000X), sendo avaliadas 100 células por lâmina. Para a avaliação da integridade da membrana plasmática, aplicou-se a técnica de coloração por eosina-nigrosina (EN), com adição de solução corante e sêmen em partes iguais. Após confecção do esfregaço, a avaliação foi feita em microscopia de campo claro (1000X), sendo que os espermatozoides com membrana plasmática lesada

apresentaram-se corados em rosa. As células com membrana plasmática íntegra não foram coradas e sua visualização foi possível pelo contraste dado pela nigrosina (13). A existência de associação entre os parâmetros seminais avaliados foi estudada pelo Teste de Correlação Linear de Pearson, com nível de significância de 5%. As correlações entre as médias foram efetuadas com uso do programa BioEstat versão 5.3 (14).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observada correlação significativa de média intensidade entre MP e IMP (0.56; $P < 0,0001$), sendo que ambos parâmetros se relacionam com a viabilidade espermática. Estes resultados concordam com outro estudo (3), onde se observou que a motilidade ($r=0,53$; $P < 0,05$) e a IMP ($r=0,59$; $P < 0,01$) pós-descongelação são bons indicadores de viabilidade, por apresentarem correlação significativa com a fertilidade. A MP apresentou, também, uma tendência estatística de correlação negativa com DME, sendo de baixa intensidade ($r=-0,09$; $P < 0,09$), observando-se que a MP pode ser alterada quando ocorre aumento da percentagem de defeitos espermáticos, principalmente de cauda ou peça intermediária.

Os DT apresentaram correlação muito alta com DMA ($r=0,94$; $P < 0,0001$) e tendências de correlações com DME ($r=0,11$; $P < 0,06$) e IMP ($r=0,10$; $P < 0,08$). Curiosamente, os DMA apresentaram correlação baixa magnitude, porém positiva, com IMP ($r=0,18$; $P < 0,002$) e negativa com DME ($r=-0,21$; $P < 0,0004$). Os DME apresentaram correlação baixa e negativa com IMP ($r=-0,25$; $P < 0,0001$), sugerindo que a elevação de DME no ejaculado reduz os níveis de IMP. Esses resultados estão de acordo com (4), que afirmam que os defeitos espermáticos correlacionam-se com a sub e infertilidade. Além disso, ao estudar a morfologia espermática de sêmen bovino, verificou-se significativa correlação negativa entre fertilidade e patologia total ($r=-0,48$) e defeitos maiores ($r=-0,51$), e correlação negativa entre fertilidade e defeitos menores ($r=-0,16$) (5). Assim, foi observado que a análise da correlação entre parâmetros seminais de touros pode ser utilizada como forma complementar para predizer a viabilidade espermática, corroborando estudo prévio que afirma que estes parâmetros são os principais métodos de se avaliar o sêmen de touros em centrais de colheita e processamento de sêmen (2).

CONCLUSÕES

A correlação entre parâmetros seminais de touros bubalinos pode servir como análise complementar para a estimativa da viabilidade espermática, possibilitando escolha de forma mais criteriosa de sêmen destinado a programas de reprodução animal assistida. Portanto, o

maior entendimento sobre a viabilidade espermática é de fundamental importância para que se projete de forma segura expectativas de fertilidade.

REFERÊNCIA

1. Maziero RRD, Crespilho AM, Freitas-Dell'Aqua CP, Dell'Aqua Junior JA, Papa FO. Rev Bras Reprod Anim. 2009; 6: 5-10.
2. Januskauskas A, Zilinskas H. Bull semen evaluation post-thaw and relation semen characteristics to bulls fertility. Vet and Zootec. 2002; 39: 1-8.
3. Pesh S, Bergmann M. Structure of mammalian spermatozoa in respect to viability, fertility and cryopreservation. Micron. 2006; 37: 597-612.
4. Casagrande JF, Pinheiro LEL, Almeida CA, Ferraz JBS. Patologia espermática agrupada segundo Blom (1972) na avaliação de sêmen para congelação. Rev Bras Reprod Anim. 1980; 3: 19-23.
5. Rodríguez-Martínez H. Methods for semen evaluation and their relationship to fertility. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal. Anais... Goiânia: 16, 2005. p.1-8.
6. Freneau GE. Análise de sêmen bovino e sua relação com a fertilidade. Rev Bras Reprod Anim. 2011; 6: 5-10.
7. Olds-Clarke P. How does poor motility alter sperm fertilizing ability? J Androl. 1996; 17: 183-186.
8. Correa JR, Pace MM, Zavos PM. Relations among frozen-thawed sperm characteristics assessed via the routine semen analysis, sperm functional tests and fertility of bulls in an artificial insemination programs. Theriogenology. 1997; 48: 721-731.
9. Graham JK. Assessment of sperm quality. In: International Symposium on Stallion Reproduction. Fort Collins, CO: Colorado State: 3, 2001. 88p.
10. Crespilho AM, Landim-Alvarenga FC, Papa FO. Infertilidade associada a defeito microtubular dos espermatozoides de jumento (*Equus asinus*) avaliados por microscopia eletrônica de transmissão. Ciência Rural. 2006; 36: 1507-1510.
11. Yoshida M. Conservation of sperms: current status and new trends. Anim Reprod Sci. 2000; 61: 349-355.
12. Tartaglione CM, Ritta MN. Prognostic value of spermatological parameters as predictors of in vitro fertility of frozen-thawed bull semen. Theriogenology. 2004; 62: 1245-1252.
13. Brito LFC. Evaluation of stallion sperm morphology. Clinic Technology Equine Pract. 2007; 6: 249-264.
14. Ayres M, Ayres Júnior M, Ayres DL, Santos AAS. BioEstat: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. 2007. 364p.