



EFEITO DA UTILIZAÇÃO DO SELÊNIO EM DILUENTE PARA CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN OVINO

Gabriel Alves¹, Prof^a. Dr^a Francielli Weber Santos Cibin², Diogo Ferreira Bicca³, Prof^a. Dr^a Daniela dos Santos Brum⁴, Luiza Gazeta Passos⁴, Jessica Ferreira Rodrigues⁴

Discente e Auto¹, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana;
Docente e Orientador², Universidade Federal do Pampa Uruguaiana;
Co-orientador³, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana;
Coautores⁴, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana.

E-mail primeiro autor- gabrielalves.aluno@unipampa.edu.br
E-mail do Orientador - franciellcibin@unipampa.edu.br

Um dos principais interesses da cadeia de criação de ovinos no Brasil, baseia-se na genética que os reprodutores carregam e que é disseminada para fins comerciais. Dessa forma, a inseminação artificial tem ocorrido paralelamente ao desenvolvimento de novas tecnologias para criopreservação do sêmen de ovinos. A criopreservação é uma excelente técnica para conservação de material genético por tempo indeterminado e foi utilizada pela primeira vez em meados de 1960 como uma alternativa para a preservação da fertilidade. É uma biotécnica que apresenta como vantagem a seleção de material genético desejado e a possibilidade de grande distanciamento temporal e espacial entre o momento da coleta do sêmen e a realização do protocolo de inseminação artificial. Porém, o processo de congelamento e descongelamento da célula espermática pode interferir em sua viabilidade, em decorrência de mudanças estruturais e fisiológicas dos espermatozoides, que podem levar a alterações na conformação lipídica da membrana, danos no DNA e alterações no acrossoma. Considerando que essas alterações podem estar associadas ao estresse oxidativo, protocolos utilizando diluentes de criopreservação suplementados com antioxidantes têm sido testados, a fim de minimizar os danos e atingir maiores taxas de prenhez. Dentre os compostos com efeito antioxidante, o selênio surge como uma alternativa de grande potencial. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de duas formas de selênio (orgânico e inorgânico) na qualidade e viabilidade espermática de sêmen ovino submetido a criopreservação utilizando dois diferentes períodos de resfriamento. Este trabalho teve a aprovação da CEUA-Unipampa (Protocolo 017/2019). Foram coletados ejaculados de quatro carneiros saudáveis, usando vagina artificial aquecida a 38°C. O sêmen foi avaliado quanto ao volume, aspecto, motilidade e morfologia e somente as amostras com qualidade comprovada foram utilizadas. Os grupos foram divididos em: grupo controle resfriado por 2h; grupo controle resfriado por 4 horas; grupo selênio orgânico (selenofuranosídeo) e grupo selênio inorgânico (selenito de sódio) esses últimos submetidos a resfriamento de 2h e 4h e suplementados nas concentrações de 0,5 e 1 µg/mL. Portanto, todos os grupos foram submetidos a curvas de resfriamento de 2h e 4h, totalizando 10 grupos. Utilizou-se como

diluyente Tris-gema para obter uma concentração de 400×10^6 espermatozoides/mL e envasou-se em palhetas de 0,25 mL, onde o sêmen estendido foi embalado manualmente na temperatura ambiente, e após, foram imediatamente resfriados a 5°C , por 2 ou 4 horas e, em seguida, foram congeladas em nitrogênio líquido a -196°C . Para as análises, palhetas de cada grupo foram descongeladas em água a 37°C por 30 segundos e submetidas à avaliação cinética e morfológica. A cinética espermática foi avaliada pelo sistema Computer Assisted Semen Analysis (CASA) equipado com o software Sperm Class Analyzer (SCA) (Versão 5.1). Os parâmetros cinéticos analisados foram: motilidade total (TM; %), motilidade progressiva (PM; %), velocidade curvilínea (VCL; $\mu\text{m/s}$), (LIN; %), amplitude da cabeça lateral deslocamento (ALH; μm), frequência de batimento da cauda (BCF; %) e porcentagem de espermatozoides com movimento rápido (hiperatividade; %). Já em relação à morfologia dos espermatozoides, esta foi analisada com aumento de $1000\times$ em uma lâmina de vitral com Rosa de Bengala avaliando um total de 200 células/grupo/réplica. A análise estatística foi realizada por meio de Anova de duas vias, seguida de teste Tukey (software GraphPad Prism 8.0.1), considerando estatisticamente significativos os valores com $P < 0,05$. A suplementação do diluyente de congelamento com $0,5 \mu\text{g/mL}$ de selenofuranosídeo submetido a uma curva de resfriamento de 4 horas aumentou a motilidade total dos espermatozoides ($80,72\% \pm 6,51$) quando comparado ao grupo controle no mesmo tempo de resfriamento ($62,67\% \pm 6,38$) ($P = 0,0099$). A suplementação com selenito de sódio $0,5 \mu\text{g/mL}$ no grupo usando a curva de resfriamento de 2 horas mostrou um aumento na motilidade espermática ($76,11\% \pm 14,57$) quando comparado ao grupo controle no mesmo tempo de resfriamento ($52,73\% \pm 2,06$) ($P = 0,0099$). Nos demais parâmetros avaliados, não foram observadas alterações significativas em relação ao tempo de resfriamento (2 ou 4 h) e em relação aos tratamentos nas concentrações utilizadas. Na avaliação morfológica, considerando morfologia normal, defeitos maiores e defeitos menores, não foram observadas diferenças significativas em relação a suplementação com selênio bem como em relação às curvas de resfriamento (2 e 4 h). Considerando a importância da motilidade espermática como um parâmetro fundamental para a fertilidade, o estudo indicou que a suplementação com selenito de sódio e selenofuranosídeo, em baixas concentrações, poderia ajudar a melhorar a motilidade total de sêmen de carneiro criopreservado sem influenciar de forma significativa em sua morfologia.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPERGS, UNIPAMPA

Palavras-chave: Criopreservação, Semên ovino, suplementação