

EFEITO DO GANHÃO NA CINÉTICA ESPERMÁTICA PÓS-DESCONGELAMENTO

Daliza Bruno Ribeiro, discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana

Cláudia Anacleto Amorim, discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana

Elise dos Santos Guerra, discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana

Flávio Arci Araújo, mestrando de pós graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana

Fabrcio Desconsi Mozzaquatro, docente, Universidade Federal do Pampa Campus Uruguaiana

E-mail primeiro autor: dalizaribeiro.aluno@unipampa.edu.br

O agronegócio do cavalo é um dos setores que mais cresce no Brasil. A utilização de biotecnologias na área equina está em ascensão, destacando-se a inseminação artificial e a criopreservação. Contudo, o procedimento de congelamento e descongelamento do sêmen equino apresenta muita variabilidade nos seus resultados podendo ocorrer perdas de até 50% na viabilidade dos espermatozoides. Este trabalho tem por objetivo verificar a influência do ganhão na cinética dos espermatozoides criopreservados. Foram utilizados 12 ejaculados de 4 ganhões, com idade média de $12,5 \pm 5,5$ anos. Todos os animais apresentavam saúde reprodutiva, sendo mantidos nas mesmas condições de criação (piquetes com pastagem de campo nativo, água e sal mineral *ad libitum*, suplementados com 1,5% de seu peso vivo). Antes de iniciar o experimento, todos os animais foram coletados 3 a 4 vezes para esgotar as reservas de espermatozoides extra gonadais. As coletas de sêmen foram realizadas com vagina artificial modelo Botucatu. Na sequência, o sêmen obtido foi diluído com Botusêmen na proporção 1:1 e enviado ao laboratório. Foram realizadas análises imediatas: motilidade total, progressiva e vigor. Ainda, realizadas a coloração supra vital e verificação de patologias espermáticas sendo logo após, liberado para criopreservação. O procedimento de centrifugação do ejaculado foi realizado com centrífuga de bancada (K-14-4000 KASVI®) a $600 \times G$ por 10 min para remoção do plasma seminal. O sobrenadante foi descartado e o pellet ressuspendido em diluente Botucio® ajustando a concentração espermática em 100×10^6 spz/ml. O procedimento de congelamento foi realizado com uma máquina automática (TK3000®) com curva de resfriamento de $(0,5^\circ\text{C}/\text{min})$ e uma curva de congelamento $(-20^\circ\text{C}/\text{min})$, até que atingisse a temperatura de (-60°C) . Após as palhetas foram imersas em nitrogênio líquido e estocadas em botijões a (-196°C) até o momento da avaliação. O procedimento de descongelamento seguiu o protocolo preconizado pelo LPEqui, sendo realizado em banho-maria a $37^\circ\text{C}/30\text{s}$. Em seguida ao procedimento de descongelamento foi realizada a análise computadorizada da cinética espermática (CASA-Androvision®, Minutube, Alemanha). As variáveis mensuradas foram as seguintes: motilidade total, circular, rápida, lenta, local, progressiva e espermatozoides imóveis. O *pre-set* utilizado para o ajuste do equipamento foi de 30 imagens/segundo com

60 Hz; Tamanho de partícula capturada de 4 e 75 $\mu\text{m}/\text{m}^2$; Espermatozoides considerados imóveis < 10 $\mu\text{m}/\text{segundo}$; Lentos < de 45 $\mu\text{m}/\text{segundo}$; Médios entre 45 a 80 $\mu\text{m}/\text{segundo}$ e rápidos > de 80 $\mu\text{m}/\text{segundo}$. Estas análises foram realizadas no laboratório (REPROLAB/UFRGS). As variáveis foram analisadas utilizando o pacote estatístico SPSS com o teste de Tukey com nível de significância de 5%. Os resultados estão expressos em média e desvio padrão. Houve diferença na cinética espermática entre os garanhões nas variáveis motilidade rápida ($p=0,004$), circular ($p=0,023$), lenta ($p=0,06$), local ($p=0,037$) e progressiva ($p=0,034$). Na motilidade rápida observou-se que o garanhão 1 ($10,52 \pm 2,90$), foi semelhante ao garanhão 3 ($7,92 \pm 1,13$), porém diferente do garanhão 2 ($1,69 \pm 2,45$). O garanhão 4 ($6,41 \pm 2,03$) não diferiu dos demais. Analisando a motilidade progressiva observou-se que o garanhão 1 ($40,38 \pm 7,58$) foi diferente do garanhão 2 ($11,78 \pm 7,03$) e os garanhões 3 e 4 ($32,99 \pm 8,47$; $28,52 \pm 15,25$; respectivamente) foram iguais entre si e em relação aos demais. No parâmetro motilidade circular o garanhão 2 ($0,77 \pm 0,94$) foi diferente do garanhão 3 ($3,03 \pm 0,52$). Os garanhões 1 e 4 ($1,23 \pm 0,34$; $2,46 \pm 1,34$, respectivamente) não apresentaram diferença em relação aos demais. Na motilidade lenta, o garanhão 1 ($29,64 \pm 5,86$) foi diferente do garanhão 2 ($9,41 \pm 4,46$). Os garanhões 3 e 4 ($22,12 \pm 7,14$; $19,66 \pm 13,41$, respectivamente) não foram diferentes aos demais. Mesma situação observada para a variável motilidade local, onde o garanhão 1 ($11,21 \pm 0,9$) foi diferente do garanhão 2 ($22,97 \pm 6,98$) e os garanhões 3 e 4 ($19,87 \pm 3,34$; $12,48 \pm 6,11$, respectivamente) não apresentaram diferença entre si e em relação aos garanhões 1 e 2. Não foram observadas diferenças entre garanhões nas variáveis motilidade total (média $45,93 \pm 14,11$) e espermatozoides imóveis (média $54,08 \pm 14,11$). Também não foi observada variação entre ejaculados do mesmo garanhão. Conforme os dados apresentados verificam-se, que alguns parâmetros da cinética espermática avaliados durante um exame andrológico, como a motilidade total e progressiva apresentaram comportamento variável em relação aos diferentes animais, demonstrando que existe variação animal. Conclui-se que o fator garanhão pode influenciar alguns parâmetros da cinética de espermatozoide equino criopreservado.

Agradecimentos: Unipampa, Estância Itapitocai, (Reprolab, UFRGS), LPEqui, Botupharma.

Palavras-chave: Criopreservação; Equino; Sêmen; Espermatozoide; CASA.