

COMPARAÇÃO ENTRE O GLICEROL E ETILENOGLICOL NA CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN CANINO

Luiz Ricardo Rodrigues¹

Tiago Xavier Vieira¹

Vanessa Lopes Dias Queiroz de Castro²

tiagovieiraxavier05@gmail.com

ÁREA DE CONHECIMENTO: Ciências Agrárias

PALAVRAS-CHAVE: biotecnologia, reprodução, criopreservação, sêmen canino

Comumente empregadas e responsáveis por êxitos na potencialização de bons índices zootécnicos, biotecnologias como a criopreservação de sêmen foram sendo aperfeiçoadas. A criopreservação tem por finalidade preservar o germoplasma masculino possibilitando armazenar o material genético por um período ilimitado. Destarte, é possível a transferência de atributos genéticos entre gerações de animais de alto valor zootécnico, dispensando a necessidade de submeter o reprodutor ao estresse em função do transporte com o objetivo do acasalamento (MADEIRA, 2010; NASCIMENTO, 2016). Na tentativa de aprimorar, diferentes cientistas vêm desenvolvendo estudos com diversos diluidores e crioprotetores com o intuito de minimizar as perdas durante o processo de congelação e descongelação do sêmen canino (MADEIRA, 2010; SILVA, 2007). A gema de ovo é utilizada como ingrediente essencial na elaboração de meios de diluidores (NEVES, 2008). Estudos demonstram que as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) interagem com os fosfolípidios da membrana espermática conferindo resistência ao choque térmico. Apesar de a gema de ovo funcionar como um importante diluidor, vale ressaltar as possíveis complicações como a transmissão de doenças (TONIOLLI *et al.*, 2015). Outro componente fulcral no processo de criopreservação são os crioprotetores, como por exemplo o glicerol e o etilenoglicol, os quais precisam ser altamente permeáveis. Os crioprotetores são utilizados por reduzirem a concentração de eletrólitos do meio extracelular, permitindo a saída de forma gradual de água do meio intracelular, contribuindo para a não formação de grandes cristais de gelo no interior das células espermáticas (SILVA, 2009). O presente estudo tem como objetivo avaliar comparativamente o glicerol e etilenoglicol na criopreservação de sêmen canino levando em conta sua influência sobre motilidade, vigor e morfologia espermática pré e pós- congelamento. O experimento será conduzido no laboratório de reprodução animal do Hospital Veterinário da Faculdade Vértice - Univértix. Serão utilizados três cães, clinicamente sadios. Será avaliado os parâmetros físicos e morfológicos do ejaculado de acordo com os padrões de julgamento de sêmen para espécie, de acordo com o manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). A coleta de sêmen será realizada por meio de manipulação digital das três frações do ejaculado utilizando tubos graduados acoplados em funis. Imediatamente após a coleta do sêmen de cada animal, o ejaculado será incubado a 37°C em banho-maria. Serão registrados o volume, a motilidade progressiva, o vigor

¹ Acadêmicos do curso de Medicina Veterinária – Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX - Matipó.

² Doutora em Medicina Veterinária- Professora do curso de Medicina Veterinária da Faculdade Vértice – UNIVÉRTIX - Matipó.

espermático, a concentração espermática e a morfologia espermática. A motilidade espermática e o vigor serão analisadas por meio de microscópio óptico em aumento de 200x. A concentração espermática será realizada em câmara de Neubauer com amostras contendo 20 μ L de sêmen diluído em 4,0 mL de solução formol-salina tamponada. Já a morfologia espermática será realizada em lâmina corada, avaliando 200 células espermáticas por amostra, em microscopia ótica sob aumento de 1000x. Posteriormente à avaliação andrológica, cada ejaculado será dividido e acrescido de dois diferentes diluentes constituindo 2 tratamentos para cada animal. O tratamento 1 (T1) corresponderá ao diluente contendo o crioprotetor intracelular glicerol. O tratamento 2 (T2) acrescido na outra metade do ejaculado corresponderá ao diluente contendo o crioprotetor intracelular etilenoglicol. Após a diluição do sêmen, o mesmo será acondicionado em caixa de isopor contendo gelo, adaptada e ajustada de maneira que ocorra o resfriamento de 37°C para 4°C em duas horas (tempo de resfriamento). Uma fração de diluente também será acondicionada nesta mesma caixa de isopor, a qual será utilizada para a diluição final do sêmen. Após o resfriamento, o sêmen diluído será mantido nesta temperatura por mais quatro horas (tempo de equilíbrio). Para a diluição final os diluidores serão adicionados lentamente até alcançar uma concentração de 30x10⁶ espermatozoides por dose. Após diluição final será realizado o envasamento manual do sêmen em palhetas de 0,5 mL previamente identificadas. As amostras devidamente identificadas serão descongeladas em água aquecida a uma temperatura de 37°C durante 30 segundos e sequencialmente avaliadas quanto à motilidade espermática e vigor, além do percentual de patologias espermáticas de cada diluidor, de cada partida de sêmen diluído em T1 e T2. Os padrões mínimos adotados para sêmen pós-descongelamento para a espécie canina serão de acordo com o manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). Motilidade espermática: $\geq 30\%$; vigor: ≥ 3 . A variável quantitativa motilidade espermática será submetida aos testes de Normalidade (Lilliefors) e Homocedasticidade (Cochran) e posteriormente a análise de variância. As médias serão comparadas utilizando o teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Se não atender às premissas de normalidade e homocedasticidade, mesmo após as transformações apropriadas, os dados serão submetidos ao teste não paramétrico de Wilcoxon. As variáveis qualitativas serão submetidas ao teste não paramétrico de Wilcoxon (SAEG, 1999). Essa pesquisa encontra-se em andamento conforme o previsto.

REFERÊNCIAS

ACIPRESTE, A.C. *et al.* Avaliação da eficácia de crioprotetores permeantes e não permeantes no descongelamento rápido e lento do sêmen canino. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v.15, n.1, p. 107-114, jan./mar. 2014.

CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2.ed., Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.

MADEIRA, V.L.H. *et al.* Efeito de diferentes protocolos de descongelação sobre o sêmen canino criopreservado em diluidor à base água de coco em pó (ACP-106). **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v. 11, n. 4, p. 845-852, out./dez. 2010.

NASCIMENTO, D.M. **Avaliação in vitro de sêmen caprino criopreservado em diluente tris contendo extrato bruto de *mauritia flexuosa***. Orientador: Ney Rômulo de Oliveira Paula. 2016. 51f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, 2016.

NEVES, M.M. **Extração das lipoproteínas de baixa densidade da gema do ovo de *Gallus domesticus* e sua aplicação na criopreservação do sêmen canino**. Orientador: Marc Henry. 2008. 116f. Tese (doutorado em Ciências Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

SILVA, A.R. Atualidades sobre a criopreservação do sêmen de cães. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.31, n.1, p.119-127, jan./mar. 2007.

SILVA, A.R. *et al.* Description of ultrastructural damages in frozen-thawed canine spermatozoa. **Ciência Animal Brasileira**. [s.l] v.10, p.595-501, abr./jun. 2009.

TONIOLLI, R. *et al.* Diferentes concentrações de gema de ovo em pó adicionada ao diluente ACP-103[®] na conservação do sêmen suíno. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v.17, n.2, p.243-251, abr./jun. 2015.