

ESTRATÉGIA DE SELEÇÃO ESPERMÁTICA PARA CONGELAÇÃO DE SÊMEN UTILIZANDO EQUIPURE™

(Sperm selection strategy for semen freezing using Equipure™)

Juliana Gomes VASCONCELOS^{1*}, Maria Eduarda Magalhães de SOUZA¹, Antônio Andrews SARAIVA¹, Antônio Carlos de Albuquerque Teles FILHO²

¹Universidade Estadual do Ceará (UECE), Avenida Dr. Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza-Ce. CEP: 60.740-000; ²Universidade Federal do Ceará.

*E-mail: juliana.gomes@aluno.uece.br

ABSTRACT

Centrifugation of equine semen through a silanated silica-particle solution (Equipure™) has shown promise for enhancing the fertility of selected subfertile stallions. Thus, the present study aimed to evaluate the total and progressive motility and vigor of a Mangalarga Marchador stallion using a density gradient centrifugation (Equipure™) before and after cryopreservation.

Keywords: Equine, semen, equipure.

INTRODUÇÃO

Na espécie equina a seleção dos reprodutores não é realizada baseada nas características reprodutivas, mas através de fatores fenotípicos e performance atlética, tornando necessário o uso de estratégias para aumentar a qualidade do sêmen e a fertilidade destes animais (BRINSKO *et al.*, 2007).

As técnicas de seleção espermática visam melhorar a qualidade do sêmen fresco, refrigerado ou congelado de garanhões através da separação e eliminação dos espermatozoides defeituosos. Recentemente um gradiente de densidade para a seleção de espermatozoides, utilizando um coloide composto por partículas de sílica recobertas com silane, permitiu aumentar a taxa de recuperação espermática. Este gradiente é conhecido comercialmente como Equipure^T, que possui grande potencial para melhorar o aproveitamento reprodutivo (PAPA, 2012).

Assim, o presente estudo objetivou avaliar a seleção espermática através da motilidade total, progressiva e vigor do ejaculado de um garanhão da raça Mangalarga Marchador, utilizando a centrifugação com gradiente de densidade (Equipure™) antes e depois da criopreservação.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em julho de 2018, em um haras, localizado no município de Aquiraz, Ce, Brasil. Com a ajuda de um manequim de coleta e uma vagina artificial modelo Botucatu (Botupharma), um total de três ejaculados foi coletado de um mesmo garanhão adulto de fertilidade comprovada da raça Mangalarga Marchador, em intervalos

*Endereço para correspondência:

juliana.gomes@aluno.uece.br

de 48 horas, sempre na presença de uma égua em estro. Após a filtração em filtro de nylon apropriado para a retirada de gel e sujidades, a fração rica do sêmen foi avaliada quanto ao volume e aspectos macroscópicos (cor, consistência, odor). Em seguida, foi avaliada a motilidade total (MT - %), progressiva (MP - %) e vigor (0 a 5) em microscópio ótico no aumento de 400x, de acordo com CBRA (2013). Além disso, a concentração espermática foi mensurada através do uso de espectrofotômetro, especificamente graduado para o sêmen equino (SDM1, Minitube[®]1). A fração rica de cada ejaculado foi então diluída em *BotuSêmen Special*[®] (Biotech Botucatu, Botucatu, SP) na proporção de 1:1 e dividida em dois grupos, o Grupo Controle (GC) e Grupo Equipure (GE). O GC foi centrifugado a uma temperatura ambiente (600g/10min) e as amostras do GE foram colocadas em 2 mL de gradiente de densidade (EquipureTM), em um tubo de 15 mL e centrifugados a temperatura ambiente (400g/20min). Ambos foram submetidos a um protocolo de criopreservação padrão (GOMES *et al.*, 2002). Foram descongeladas duas palhetas de cada ejaculado criopreservado à temperatura de 37 °C por 60 segundos para uma posterior análise, sempre pelo mesmo avaliador. Os mesmos parâmetros cinéticos foram igualmente reavaliados. A análise estatística foi realizada através de *ANOVA e teste de Tukey* utilizando o programa Bioestat[®], versão 5.3. (Diferença quando $p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Existem dois produtos para equinos que são comercialmente disponíveis e utilizados para promover a seleção espermática, o Equipure e o Androcoll.

Esses produtos já demonstraram a sua eficiência em separar células com motilidade adequada e morfologicamente normais do sêmen refrigerado de garanhões (MACPHERSON *et al.*, 2001). Também foi observado que a utilização da seleção espermática com coloide composto por partículas de sílica recobertas com silane, denominado de Equipure, aumentou a resistência espermática à refrigeração (RAMIRES-NETO *et al.*, 2013).

No presente estudo, as características de motilidade total (MT), progressiva (MP) e vigor espermático (V) estão expressas na Tab. 1. Observou-se que houve uma diferença estatística entre o GC e GE em relação aos parâmetros cinéticos MT (77 ± 6 / 63 ± 3) e MP (53 ± 6 / 35 ± 5) logo após a centrifugação, com valores melhores no caso do GC. Os resultados positivos em relação a MT no GC não corroboraram com os resultados de Papa *et al.* (2012), que ao testarem este coloide antes da congelação do sêmen equino, observaram um aumento significativo dos parâmetros de cinética espermática tanto após a seleção espermática quanto após a descongelação do sêmen, que foi previamente selecionado.

Tais resultados podem estar relacionados ao dobro de tempo de centrifugação a que o GE foi submetido. Mesmo com a MT sendo influenciada logo após a centrifugação, nos dois grupos testados os parâmetros não apresentaram diferenças significativas após o congelamento, como nos estudos de Ramires-Neto *et al.* (2013), onde observaram que a utilização da seleção espermática com EquipureTM aumentou a resistência espermática à refrigeração e preservou os parâmetros cinéticos seminais

*Endereço para correspondência:

juliana.gomes@aluno.uece.br

Tabela 01: Valores médios dos parâmetros espermáticos em amostras de sêmen na pré-congelação e pós-descongelação, nos grupos controle e equipure ($p < 0.05$).

Características	Sêmen <i>in natura</i>	Grupo Controle (centrifugação)		Grupo Equipure (centrifugação)	
		Antes	Após	Antes	Após
Motilidade Total (%)	60±17	77±6 ^a	53±6 ^c	63±3 ^b	45±5 ^c
Motilidade Progressiva (%)	37±25	53±6 ^a	23±6 ^c	35±5 ^b	32±8 ^c
Vigor (0 a 5)	3,0±1,0	3,0±0,5 ^d	2,0±0,0 ^d	2,8±0,29 ^d	2,3±0,29 ^d

CONCLUSÃO

A utilização do gradiente de densidade EquipureTM não demonstrou diferença significativa em relação ao grupo controle quando comparado o sêmen após a descongelação. Maiores estudos devem ser realizados, pois esta tecnologia pode otimizar os parâmetros cinéticos do sêmen equino, principalmente após a descongelação, o que é essencial para o desempenho das técnicas reprodutivas.

REFERÊNCIAS

- BRINSKO, S.P.; LOVE, C.C.; BAUER, J.E.; MACPHERSON, M.L.; VARNER, D.D. Cholesterol-to-phospholipid ratio in whole sperm and seminal plasma from fertile stallions and stallions with unexplained subfertility. *Animal Reproduction Science*, Amsterdam, v.99, p.65-71, 2007.
- CBRA. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 2ª ed. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 2013. 45p.
- GOMES, G.M.; JACOB, J.C.F.; MEDEIROS, A.S.L.; PAPA, F.O., ALVARENGA, M.A. Improvement of stallion spermatozoa for the Mangalarga Marchador breed. *Theriogenology*, v.58, p.277-279, 2002.
- LEÃO KM. Inseminação artificial por endoscopia com número reduzido de espermatozoides utilizando sêmen fresco e congelado de garanhões. 2002, 105p. Tese (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2001.
- PAPA, P.M.; MAZIERO, R.R.D.; HARTWIG, F.P.; LISBOA, F.P.; DELLAQUA, J.A.; ALVARENGA, M.A.; GUASTI, P.N.; LANDIM-ALVARENGA, F.C.; PAPA, F.O. Effect of density gradient on sperm parameters os stallion frozen semen. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.32, p.505, 2012. Abstract.
- RAMIRES NETO, C.; MONTEIRO, G.A.; SOARES, R.F.; PEDRAZZI, C.; DELL'AQUA, J.A.; PAPA, F.O.; CASTRO CHAVES, M.M.B.; ALVARENGA, M.A. New seminal plasma removal method for freezing stallion semen. *Theriogenology*, v.79, p.1120-1123, 2013.

*Endereço para correspondência:

juliana.gomes@aluno.uece.br