

# QUALIDADE DE SÊMEN SUÍNO RESFRIADO EM DIFERENTES TEMPERATURAS E ACONDICIONADO NO DILUENTE PIGPEL-5 INCLUINDO DIFERENTES CRIOPROTETORES

Juliano, F.<sup>1\*</sup>; Bianchi, I.<sup>1</sup>; Varela Junior, A.S. <sup>1</sup>; Serret, C.G. <sup>1</sup>; Ulguim, R.<sup>1</sup>; Corcine, C.D. <sup>1</sup>; Lucia Jr, T. <sup>1, 2</sup>; Deschamps, J.C. <sup>1, 2</sup>; Corrêa, M.N.<sup>1,3</sup>;

<sup>1</sup> PIGPEL – Centro de Biotecnologia, Faculdade de Veterinária

<sup>2</sup> Departamento de Patologia Animal, Faculdade de Veterinária

<sup>3</sup> Departamento de Clínicas Veterinária, Faculdade de Veterinária

Campus Universitário s/n – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900

Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS.

\*fjuliano@ufpel.edu.br www.ufpel.edu.br/pigpel

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, foi desenvolvido junto ao Laboratório de Reprodução Animal do Centro de Biotecnologia na Universidade Federal de Pelotas-RS, um diluente para acondicionar sêmen suíno à 5°C, chamado PIGPEL-5 [1]. Os resultados obtidos até o momento são provenientes da avaliação *in vitro* através dos testes de motilidade, vigor, integridade de membrana através do choque hiposmótico e morfologia espermática, além da avaliação *in vivo* através da inseminação artificial com cio e ovulação sincronizados. Esses resultados demonstram um adequado e eficiente desempenho do diluente PIGPEL-5 [1]. Sendo assim, o diluente PIGPEL-5 se encontra ainda em fase de testes, mas já com resultados consistentes quanto à eficácia de sua utilização.

O objetivo do presente estudo foi o de avaliar a qualidade do sêmen armazenado em diluente *Beltsville Thawing Solution* (**BTS**) acondicionado à 17°C, em relação ao sêmen armazenado em diluente PIGPEL-5 (**PP**), em que se utiliza gema de ovo (**G**) ou lipoproteína de baixa densidade (**LDL**), purificada da gema do ovo, acondicionado à 5°C e à 17°C em caixas acondicionadoras (**CA**), objetivando comprovar a versatilidade do diluente PIGPEL-5 quanto à diluição e armazenamento à 5°C e 17°C.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido com a utilização de ejaculados provenientes de 3 machos suínos F1 (Landrace x Large White), locados na Fazenda da Palma, da Universidade Federal de Pelotas-RS. Foram coletados 4 ejaculados de cada macho pelo método da mão enluvada. Cada ejaculado foi fracionado e submetido a todos os tratamentos. Os ejaculados foram diluídos em condições isotérmicas, com os diluentes *Beltsville Thawing Solution* (**BTS**) [4] e PIGPEL-5 (**PP**) com gema de ovo (**G**) ou com lipoproteína de baixa densidade (**LDL**), previamente purificada da gema do ovo [3].

As doses de sêmen que foram diluídas em diluente **BTS** foram acondicionadas em caixas térmicas à temperatura de 17°C, seguindo a recomendação para este diluente [2], e as doses diluídas com PIGPEL-5 foram acondicionadas à temperatura de 5°C ou 17°C. Em todas as amostras foram feitas as avaliações de motilidade (**MOT**), integridade funcional da membrana (**IM**) através do choque hiposmótico (**CHIPO**) e morfologia (**MORF**) espermática. Estas avaliações foram realizadas com o sêmen a fresco pós-diluído e após 24, 48 e 72 horas de acondicionamento. Todas as análises estatísticas foram conduzidas através do programa STATISTIX<sup>®</sup> [5].

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 nos fornece dados acerca das motilidades espermáticas observadas no sêmen, armazenado nos diferentes diluentes ao longo do período de acondicionamento. Conforme observado, a motilidade espermática apresentou diferenças estatísticas entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ) na hora 0, sendo que os melhores resultados foram obtidos nos tratamentos **PP-G – 17°C** ( $75,8 \pm 5,15$ ), **PP-G – 5°C** ( $75,8 \pm 5,15$ ) e **PP-LDL – 5°C** ( $75,8 \pm 5,15$ ). Nas 24 horas de acondicionamento, as motilidades do sêmen nos diluentes **PP-G – 17°C** ( $74,2 \pm 5,15$ ), **PP-LDL – 17°C** ( $74,2 \pm 6,69$ ) e **PP-G – 5°C** ( $69,2 \pm 5,15$ ) foram superiores ( $P < 0,05$ ) ao **BTS** ( $55,0 \pm 21,95$ ) e este não diferiu do **PP-LDL – 5°C** ( $59,9 \pm 17,3$ ). Nas 48 horas, todos os diluentes **PP** não diferiram

entre si, sendo que os resultados obtidos com o **BTS** ( $45,0 \pm 24,31$ ) foram inferiores ( $P < 0,05$ ) ao **PP-LDL - 17°C** ( $68,3 \pm 9,37$ ) e ao **PP-G - 5°C** ( $65,0 \pm 6,74$ ). Nas 72 horas de acondicionamento, os resultados do diluente **BTS** ( $33,3 \pm 26,05$ ) foram inferiores ( $P < 0,05$ ) aos diluentes **PP-G - 5°C** ( $65,0 \pm 5,22$ ) e **PP-LDL - 5°C** ( $54,2 \pm 13,11$ ) e não diferiram do **PP-G - 17°C** ( $26,7 \pm 28,17$ ) e **PP-LDL - 17°C** ( $50,8 \pm 27,45$ ).

**Tabela 1.** Motilidade espermática nos diferentes diluentes durante o período de acondicionamento (média  $\pm$  desvio padrão)

| Tratamentos          | Motilidade espermática nos respectivos horários de avaliação, % |                      |                       |                       |
|----------------------|---|----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                      | 0 h   | 24 h                 | 48 h                  | 72 h                  |
| <b>BTS</b>           | $70,8 \pm 5,15^b$   | $55,0 \pm 21,95^c$   | $45,0 \pm 24,31^b$    | $33,3 \pm 26,05^{bc}$ |
| <b>PP-G - 17°C</b>   | $75,8 \pm 5,15^a$   | $74,2 \pm 5,15^a$    | $53,3 \pm 32,29^{ab}$ | $26,7 \pm 28,17^c$    |
| <b>PP-LDL - 17°C</b> | $75,0 \pm 6,74^{ab}$  | $74,2 \pm 6,69^a$    | $68,3 \pm 9,37^a$     | $50,8 \pm 27,45^{ab}$ |
| <b>PP-G - 5°C</b>    | $75,8 \pm 5,15^a$   | $69,2 \pm 5,15^{ab}$ | $65,0 \pm 6,74^a$     | $65,0 \pm 5,22^a$     |
| <b>PP-LDL - 5°C</b>  | $75,8 \pm 5,15^a$   | $59,9 \pm 17,3^{bc}$ | $58,2 \pm 10,79^{ab}$ | $54,2 \pm 13,11^a$    |

Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, significa diferença estatística ( $P < 0,05$ )

Conforme observado na tabela 2, a avaliação da integridade funcional da membrana plasmática apresentou diferenças estatísticas entre os tratamentos utilizados ( $P < 0,05$ ), a partir das 24 horas de acondicionamento, sendo nesse momento os melhores resultados encontrados com o tratamento **PP-G - 17°C** ( $8,33 \pm 7,46$ ). Com relação às 48 horas, os melhores achados ( $P < 0,05$ ) foram com o tratamento **PP-LDL - 17°C** ( $12,50 \pm 13,18$ ), quando comparados com **BTS** ( $3,67 \pm 4,12$ ), **PP-G - 17°C** ( $4,25 \pm 4,77$ ), **PP-G - 5°C** ( $2,50 \pm 7,17$ ) e **PP-LDL - 5°C** ( $2,67 \pm 2,96$ ), os quais não diferiram entre si. Tais resultados foram confirmados em 72 horas de acondicionamento.

**Tabela 2.** Integridade funcional da membrana espermática através do CHIPO (média  $\pm$  desvio padrão)

| Tratamentos          | Integridade funcional da membrana plasmática nos respectivos horários de avaliação, % |                      |                     |                      |
|----------------------|---|----------------------|---------------------|----------------------|
|                      | 0 h   | 24 h                 | 48 h                | 72 h                 |
| <b>BTS</b>           | $8,25 \pm 8,18^a$   | $6,17 \pm 3,97^{ab}$ | $3,67 \pm 4,12^b$   | $3,00 \pm 4,11^b$    |
| <b>PP-G - 17°C</b>   | $8,08 \pm 10,71^a$  | $8,33 \pm 7,46^a$    | $4,25 \pm 4,77^b$   | $1,83 \pm 1,40^b$    |
| <b>PP-LDL - 17°C</b> | $9,83 \pm 13,13^a$  | $5,17 \pm 7,13^{ab}$ | $12,50 \pm 13,18^a$ | $10,00 \pm 11,58^a$  |
| <b>PP-G - 5°C</b>    | $6,00 \pm 11,72^a$  | $3,00 \pm 2,63^b$    | $2,50 \pm 7,17^b$   | $4,17 \pm 3,61^b$    |
| <b>PP-LDL - 5°C</b>  | $6,25 \pm 11,89^a$  | $3,00 \pm 3,91^b$    | $2,67 \pm 2,96^b$   | $5,50 \pm 4,74^{ab}$ |

Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, significa diferença estatística ( $P < 0,05$ )

Na avaliação da morfologia espermática (Tabela 3), não foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos utilizados ( $P > 0,05$ ). Estes valores estão de acordo com alguns dados obtidos por outros autores [1], que encontraram valores de morfologia semelhantes entre os diluentes PIGPEL-5 (**PP**) e **BTS**, utilizado na rotina de granjas de suínos para uso em IA.

**Tabela 3.** Morfologia espermática normal nos diferentes diluentes (média  $\pm$  desvio padrão)

| Tratamentos          | Morfologia espermática normal nos respectivos horários de avaliação, % |                     |                     |                     |
|----------------------|--|---------------------|---------------------|---------------------|
|                      | 0 h  | 24 h                | 48 h                | 72 h                |
| <b>BTS</b>           | $87,25 \pm 13,46^a$  | $84,77 \pm 17,40^a$ | $79,25 \pm 21,78^a$ | $82,17 \pm 18,49^a$ |
| <b>PP-G - 17°C</b>   | $84,18 \pm 16,70^a$  | $86,17 \pm 17,05^a$ | $88,83 \pm 13,05^a$ | $87,75 \pm 12,56^a$ |
| <b>PP-LDL - 17°C</b> | $88,64 \pm 11,84^a$  | $91,08 \pm 8,21^a$  | $81,09 \pm 19,61^a$ | $91,17 \pm 9,94^a$  |
| <b>PP-G - 5°C</b>    | $85,17 \pm 16,36^a$  | $85,33 \pm 18,69^a$ | $83,08 \pm 14,34^a$ | $84,67 \pm 22,16^a$ |
| <b>PP-LDL - 5°C</b>  | $87,67 \pm 13,26^a$  | $87,83 \pm 12,28^a$ | $81,27 \pm 20,06^a$ | $88,42 \pm 13,38^a$ |

Não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os valores, na mesma coluna.

#### 4. CONCLUSÃO

Em razão dos resultados obtidos no presente estudo, ficou demonstrado a eficácia do diluente PIGPEL-5 (PP) quando acondicionado à 5°C e à 17°C, com gema ou na substituição desta por *lipoprotein light density* (lipoproteína de baixa densidade) (LDL). Sendo assim, fica claro a sua versatilidade em relação à temperatura de acondicionamento, possibilitando assim sua utilização em unidades de produção de suínos que utilizam caixas acondicionadoras tanto à 5°C quanto à 17°C.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CORRÊA, M.N. **Avaliação in vitro e in vivo de sêmen suíno preservado à 5°C com o diluente PIGPEL-5**. Pelotas, 2002. 146 p. Tese (Doutorado em ciências) Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, 2002.
- [2] JOHNSON, L.A.; WEITZE, K.F.; FISER, P.; MAXWELL, W.M.C.. Storage of boar semen. **Anim. Reprod. Sci.** v.62, p.143-172, 2000.
- [3] MOUSSA, M.; MARTINET, V.; TRIMECHE, A.; TAINTURIER, D.; ANTON, M.. Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen **Theriogenology** n. 57, p.1695-1706, 2002.
- [4] PURSEL, V.G., JOHNSON, L.A.. Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. **Journal Animal Science**. v.40, p. 99–102, 1975.
- [5] STATISTIX®. Ed. Analytical Software. 2000.