

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

Juliano, F.1; Bianchi, I.1; Corrêa, M.N.1; \*Lucia Jr., T.1; Serret, C.G.1; Corcine, C.D.1; Deschamps, J.C.1

<sup>1</sup> PIGPEL: Ensino, Pesquisa e Serviços em Produção de Suínos, Centro de Biotecnologia, Campus Universitário s/n.º, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, Caixa Postal 354, CEP 96010-900 [ibianchi@ufpel.edu.br](mailto:ibianchi@ufpel.edu.br) (53) 84051356

### 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 no diluente *Beltsville Thawing Solution* (BTS) acondicionado à 17°C (4), em relação ao sêmen armazenado em diluente PIGPEL-5, em que se utilizou como crioprotetor 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, objetivando comprovar a versatilidade do diluente PIGPEL-5 quanto à diluição e armazenamento à 5°C e 17°C.

### 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 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, 4), e as doses diluídas com PIGPEL-5 (G e LDL) foram acondicionadas à temperatura de 5°C e 17°C. Em todas as amostras foram feitas as avaliações de motilidade (MOT), integridade funcional da membrana através do choque hiposmótico (CHIPO) e morfologia espermática. Estas avaliações foram realizadas com o sêmen pós-diluído (0 hora) e após 24, 48 e 72 horas de acondicionamento. Todas as análises estatísticas foram conduzidas através do programa STATISTIX® (5).

### 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 PIGPEL-5-G 17°C e 5°C ( $75,8 \pm 5,15$  e  $75,8 \pm 5,15$ , respectivamente) e PIGPEL-5-LDL 5°C ( $75,8 \pm 5,15$ ). Nas 24 horas de acondicionamento, as motilidades do sêmen nos diluentes PIGPEL-5-G 17°C ( $74,2 \pm 5,15$ ), PIGPEL-5-LDL 17°C ( $74,2 \pm 6,69$ ) e PIGPEL-5-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 PIGPEL-5-LDL 5°C ( $59,9 \pm 17,3$ ). Nas 48 horas, todos os diluentes PIGPEL-5 não diferiram entre si, sendo que os resultados obtidos com o BTS ( $45,0 \pm 24,31$ ) foram inferiores ( $P < 0,05$ ) ao PIGPEL-5-LDL 17°C e ao PIGPEL-5-G 5°C ( $68,3 \pm 9,37$  e  $65,0 \pm 6,74$ , respectivamente). Nas 72 horas de acondicionamento, os resultados do diluente BTS ( $33,3 \pm 26,05$ ) foram inferiores ( $P < 0,05$ ) aos diluentes PIGPEL-5-G 5°C ( $65,0 \pm 5,22$ ) e PIGPEL-5-LDL 5°C ( $54,2 \pm 13,11$ ) e não diferiram do PIGPEL-5-G 17°C ( $26,7 \pm 28,17$ ) e PIGPEL-5-LDL 17°C ( $50,8 \pm 27,45$ ). 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 PIGPEL-5-G 17°C ( $8,33 \pm 7,46$ ). Com relação às 48 horas, os melhores achados ( $P < 0,05$ ) foram com o tratamento PIGPEL-5-LDL 17°C ( $12,50 \pm 13,18$ ), quando comparados com BTS ( $3,67 \pm 4,12$ ), PIGPEL-5-G 17°C ( $4,25 \pm 4,77$ ), PIGPEL-5-G 5°C ( $2,50 \pm 7,17$ ) e PIGPEL-5-LDL 5°C ( $2,67 \pm 2,96$ ), os quais não diferiram entre si. Tais resultados foram confirmados nas 72 horas de acondicionamento. 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 (1), que encontraram valores de morfologia semelhantes entre os diluentes PIGPEL-5 e BTS.

### CONCLUSÕES

Em razão dos resultados obtidos no presente estudo, ficou demonstrada a eficácia do diluente PIGPEL-5 quando acondicionado à 5°C e à 17°C, com gema ou na substituição desta por 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.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CORRÊA, M.N.; LUCIA, T.JR.; DESCHAMPS, J.C.; SERRET, C.G.; BORDIGNON, J.; RAMBO, G. Taxa de penetração espermática *in vitro* em ovócitos suínos utilizando espermatozoides acondicionados com o diluente PIGPEL-5 à 5°C. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.28, p.161-169, 2004. 2. JOHNSON, L.A.; WEITZE, K.F.; FISER, P.; MAXWELL, W.M.C. Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science*, v.62, p.143-172, 2000. 3. MOUSSA, M.; MARTINET, V.; TRIMECHE, A.; TAINURIER, D.; ANTON, M. Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull sperm. *Theriogenology*, v.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 of Animal Science*, v.40, p. 99–102, 1975. 5. STATISTIX®. Ed. Analytical Software. 2004.

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

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

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

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

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

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

**Tabela 3.** Morfologia espermática normal nos diferentes diluentes (média ± desvio padrão)

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

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