

EFEITO DO DILUENTE PIGPEL-5 COM DISTINTOS CRIOPROTETORES NO SÊMEN SUÍNO RESFRIADO, ARMAZENADO EM GELADEIRA E CAIXAS REFRIGERADORAS À 5°C E 17°C

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

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

INTRODUÇÃO

Quando se utilizam diluentes capazes de manter a qualidade das doses inseminantes entre 15 e 18°C, se faz necessário à utilização de caixas acondicionadoras com termostato regulado para este intervalo de temperatura. Porém, é importante considerar que estas caixas apresentam um custo elevado, principalmente para pequenas unidades de produção de suínos e quando submetidas a variações de temperatura apresentam dificuldades em estabilizar a temperatura na amplitude desejada. Com isso, uma importante alternativa consiste em utilizar refrigeradores domésticos com temperatura média de 5°C, o que permitiria uma maior disseminação da inseminação artificial (IA), pela possibilidade da utilização da técnica por todos os sistemas de produção, mesmo em unidades com menor disponibilidade de recursos financeiros. Sendo assim, unidades de produção de qualquer porte poderiam desfrutar dos benefícios desta técnica (1,3,6). O objetivo do presente estudo foi comparar a qualidade do sêmen armazenado com o diluente *Beltsville Thawing Solution* (BTS), em relação ao sêmen armazenado com o diluente PIGPEL-5 utilizando gema de ovo ou lipoproteína de baixa densidade (LDL), purificada da gema do ovo, em geladeira comercial ou caixa acondicionadora.

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 (UFPEL-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) (6) e PIGPEL-5 (2) com gema de ovo (G) ou com lipoproteína de baixa densidade (LDL) purificada da gema do ovo (5). As doses de sêmen diluídas em BTS foram acondicionadas em caixa acondicionadora à temperatura de 17°C, seguindo a recomendação para este diluente (4,6,7), e as doses diluídas com PIGPEL-5 foram acondicionadas à temperatura de 5°C em caixa acondicionadora ou em geladeira doméstica. Foram feitas as avaliações de motilidade (MOT) espermática, 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. Todas as análises estatísticas foram conduzidas através do sistema STATISTIX[®] (8).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de motilidade espermática da Tabela 1 revelam alguns valores mais elevados e com diferença estatística ($P < 0,05$) em favor do diluente PIGPEL-5 em relação ao BTS, nas 24, 48 e 72 horas de armazenamento. As motilidades não diferiram estatisticamente entre os tratamentos na hora 0. Entretanto, a motilidade nas 24 horas de acondicionamento, o sêmen em caixa acondicionadora no PIGPEL-5-G ($72,50 \pm 7,54$) foi maior ($P < 0,05$) em relação ao diluente BTS ($65,83 \pm 6,68$), mas não diferiu dos tratamentos PIGPEL-5-LDL em caixa acondicionadora ($70,00 \pm 7,38$), e nos tratamentos em geladeira, PIGPEL-5-G ($70,83 \pm 6,68$) e PIGPEL-5-LDL ($69,17 \pm 5,15$), e os mesmos não diferiram estatisticamente do BTS. Já nas 48 horas, os tratamentos que diferiram entre si ($P < 0,05$) foram PIGPEL-5-G em geladeira ($67,50 \pm 4,52$) e PIGPEL-5-LDL em geladeira ($61,67 \pm 5,77$). Com relação às 72 horas, os melhores resultados foram obtidos com o tratamento PIGPEL-5-G em geladeira ($64,17 \pm 6,68$), mas esse não diferiu do PIGPEL-5-G em caixa acondicionadora ($56,67 \pm 6,51$), o qual foi igual ao BTS ($56,67 \pm 6,51$). Na avaliação da integridade funcional da membrana (Tabela 2), houve diferença estatística entre os tratamentos ($P < 0,05$) nas 24, 48 horas com exceção da 0 e 72 horas ($P > 0,05$). Em 24 horas o sêmen diferiu ($P < 0,05$) entre os tratamentos BTS ($2,67 \pm 3,75$) e PIGPEL-5-G em caixa acondicionadora ($0,50 \pm 1,00$), quanto à integridade funcional da membrana, mas não diferiu entre os outros tratamentos e esses não diferiram com os tratamentos citados acima. A avaliação das 48 horas demonstrou melhores resultados ($P < 0,05$) para o tratamento com BTS ($5,92 \pm 5,65$), não ocorrendo diferença nos outros tratamentos entre si. Quanto à morfologia espermática, expressa na Tabela 3, não foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos utilizados ($P > 0,05$). Estes valores estão de acordo com dados obtidos em outro trabalho (2), que encontraram valores de morfologia semelhantes entre os diluentes PIGPEL-5 e BTS.

CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos com o presente estudo, foi demonstrada a possibilidade do uso dos diluentes PIGPEL-5 (PIGPEL-5-G e PIGPEL-5-LDL) armazenado em caixa acondicionadora ou em geladeira doméstica em centrais ou em granjas que utilizam a inseminação artificial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I. Inseminação artificial em suínos no Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. v.21, n.3, p.13-15, 1997. 2. 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. 3. DESCHAMPS, J.C.; LUCIA, T. Jr.; TALAMINI, D.J.D.. A cadeia produtiva da suinocultura. **Agronegócio Brasileiro - Ciência, Tecnologia e Competitividade**. p.239-255, 1998. 4. 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. 5. 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 semen **Theriogenology** v.57, p.1695-1706, 2002. 6. 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. 7. PURSEL, V.G.; SCHULMAN, L.L.; JOHNSON, L.A. Effect of holding time on storage of boar spermatozoa at 5°C. **Journal of Animal Science**. v.37, n.3, p.785-789, 1973. 8. STATISTIX®. Ed. **Analytical Software**. 2004.

Tabela 1. Motilidade espermática nos diferentes diluentes e horários de avaliação (média ± desvio padrão)

Tratamentos	Motilidade espermática nos respectivos horários de avaliação, %			
	0 h	24 h	48 h	72 h
BTS	73,33 ± 4,92 ^a	65,83 ± 6,68 ^b	62,50 ± 6,21 ^{ab}	56,67 ± 6,51 ^b
PIGPEL-5-G Caixa Acondicionadora	76,67 ± 4,92 ^a	72,50 ± 7,54 ^a	65,83 ± 9,00 ^{ab}	60,83 ± 6,68 ^{ab}
PIGPEL-5-LDL Caixa Acondicionadora	76,67 ± 4,92 ^a	70,00 ± 7,38 ^{ab}	64,17 ± 6,68 ^{ab}	58,33 ± 7,18 ^b
PIGPEL-5-G Geladeira	76,67 ± 4,92 ^a	70,83 ± 6,68 ^{ab}	67,50 ± 4,52 ^a	64,17 ± 6,68 ^a
PIGPEL-5-LDL Geladeira	76,67 ± 4,92 ^a	69,17 ± 5,15 ^{ab}	61,67 ± 5,77 ^b	58,33 ± 5,77 ^b

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 funcional da membrana nos distintos horários de avaliação, %			
	0 h	24 h	48 h	72 h
BTS	2,92 ± 2,64 ^a	2,67 ± 3,75 ^a	5,92 ± 5,65 ^a	2,83 ± 3,54 ^a
PIGPEL-5-G Acondicionadora	Caixa 3,42 ± 5,37 ^a	0,50 ± 1,00 ^b	0,50 ± 3,34 ^b	2,58 ± 3,94 ^a
PIGPEL-5-LDL Acondicionadora	Caixa 3,33 ± 3,75 ^a	1,42 ± 1,97 ^{ab}	2,75 ± 2,99 ^b	1,17 ± 1,03 ^a
PIGPEL-5-G Geladeira	3,50 ± 4,72 ^a	1,75 ± 1,71 ^{ab}	1,08 ± 3,58 ^b	3,33 ± 6,62 ^a
PIGPEL-5-LDL Geladeira	3,33 ± 2,93 ^a	2,17 ± 3,13 ^{ab}	2,50 ± 2,02 ^b	2,00 ± 2,09 ^a

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	82,83 ± 19,27 ^a	83,92 ± 18,89 ^a	82,50 ± 21,84 ^a	82,83 ± 20,22 ^a
PIGPEL-5-G Acondicionadora	Caixa 85,83 ± 16,33 ^a	83,75 ± 19,44 ^a	83,75 ± 20,92 ^a	83,42 ± 18,23 ^a
PIGPEL-5-LDL Acondicionadora	Caixa 86,92 ± 15,21 ^a	86,17 ± 15,77 ^a	84,42 ± 14,33 ^a	84,83 ± 18,31 ^a
PIGPEL-5-G Geladeira	85,67 ± 19,76 ^a	86,75 ± 17,06 ^a	83,00 ± 18,68 ^a	83,67 ± 20,06 ^a
PIGPEL-5-LDL Geladeira	81,83 ± 20,80 ^a	83,08 ± 21,21 ^a	86,00 ± 12,27 ^a	79,83 ± 20,05 ^a

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