

## EFEITO DO DILUENTE PIGPEL-5 SOBRE ALGUNS PARÂMETROS DA AVALIAÇÃO DE SÊMEN SUÍNO ACONDICIONADO A 5°C

Corrêa, M.N.<sup>1</sup>; Bianchi, I.<sup>1</sup>; \*Lucia Jr., T.<sup>1</sup>; Schmidt, E.<sup>1</sup>; Rech, D.C.<sup>1</sup>; Peruzzo, I.A.<sup>1</sup>; Macedo Jr., M.<sup>1</sup>; Colares, T.<sup>1</sup>; Deschamps, J.C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> PIGPEL: Ensino, Pesquisa e Serviços em Produção de Suínos, Centro de Biotecnologia, Campus Universitário s/nº, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, Caixa Postal 354, CEP 96010-900 [ibianchi@ufpel.edu.br](mailto:ibianchi@ufpel.edu.br) (53) 84051356

### INTRODUÇÃO

O uso de sêmen suíno resfriado à 5°C é, em geral, limitado por estar associado a menor fertilidade e prolificidade devido à reduzida motilidade e perda da integridade de membrana após o acondicionamento [3], além do prejuízo de algumas importantes funções celulares, ligadas principalmente à motilidade [7]. O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito de um diluente para acondicionamento de sêmen suíno à 5°C (PIGPEL-5), comparado com o BTS à 17°C, considerando motilidade, vigor e morfologia do acrossoma, cabeça e cauda, além do teste de estresse térmico e do choque hiposmótico, após 24 e 48 h de acondicionamento.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido com a utilização de ejaculados de 4 machos suínos, provenientes do cruzamento entre as raças Landrace e Large White, em instalação própria da Universidade Federal de Pelotas/RS/Brasil. Foram realizadas 18 coletas de cada macho para realização deste estudo, num período de 4,5 meses, praticando-se como rotina a coleta de um ejaculado por macho a cada semana. Após a coleta do sêmen, foram registradas as informações quanto a volume, aspecto, motilidade, vigor e concentração. Para verificação de motilidade e vigor foi feita avaliação direta, em microscópio, por um técnico treinado, de amostras de ejaculado. A concentração foi avaliada utilizando-se espermiodensímetro e a morfologia pelo método da lâmina úmida em microscópio de contraste de fases. Os ejaculados foram diluídos em BTS [5] e PIGPEL-5 [2]. As doses de sêmen com o diluente BTS foram acondicionadas em caixa acondicionadora a temperatura de 17°C e as doses de sêmen diluídas com PIGPEL-5, foram acondicionadas em uma geladeira à temperatura de 5°C. Após o acondicionamento, a cada intervalo de 24 h, o sêmen foi novamente avaliado quanto a motilidade, vigor e morfologia [1]. Também durante cada período, realizou-se o teste de estresse térmico (TET) [4]. Para avaliar a integridade funcional dos espermatozoides foi realizado o teste do choque hiposmótico (CHIPO). Todas as análises estatísticas foram conduzidas usando o programa SAS® [6].

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A motilidade média antes e após a diluição foi de 84,8% ± 5,1 e 80,1% ± 9,6, respectivamente. Já a motilidade média para os dois tratamentos foi de 70,6% ± 9,4 às 24 h e de 61,1% ± 11,3 às 48 h. A motilidade diferiu entre os dois tratamentos para os dois períodos de acondicionamento ( $P < 0,05$ ). Após 24 h de acondicionamento, a motilidade do sêmen acondicionado com PIGPEL-5 e BTS, respectivamente, foi de: 67,9% ± 0,9 e 73,9% ± 0,9. Às 48 h, a motilidade foi de: 59,3% ± 1,2 e 64,0% ± 1,2 para PIGPEL-5 e BTS, respectivamente. É importante ressaltar que não foram observadas diferenças quanto a motilidade ( $P > 0,05$ ), entre os ejaculados, antes e após a diluição, para ambos os tratamentos. A percentagem de espermatozoides móveis, observada neste experimento, mostra que ambos tratamentos, mesmo com valores inferiores aos recomendados pela literatura, foram capazes de preservar a atividade espermática após o acondicionamento. Em relação ao vigor, não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) quanto ao percentual de células com vigor 3 e 4 para os dois tratamentos antes e após a diluição, o que pode indicar eficácia durante a diluição do sêmen. Antes da diluição 83,6% das amostras apresentava vigor 4 e, que após a diluição, 73,5% das amostras apresentava vigor com esta mesma classificação. Em ambos os tratamentos, após 24 h de acondicionamento as frequências para vigor 2, 3 e 4 foram de 6,3, 56,3%, 37,5%, respectivamente, enquanto após 48 h de acondicionamento as frequências para estes mesmos escores de vigor foram de 15,6, 57,8 e 26,6%, respectivamente. Após 24 h de acondicionamento, dentre as amostras com vigor espermático classificado como 4, 70,8% foram acondicionadas com o PIGPEL-5 e 29,2% com BTS, enquanto que às 48 h, 87,9% foram com PIGPEL-5 e 12,1% com BTS, sendo em ambos os casos diferentes ( $P < 0,05$ ). Já para vigor espermático classificado como 3, após 24 h foram 34,7% com PIGPEL-5 e 65,3% com BTS, e após 48 h foram 32,4% com PIGPEL-5 e 67,6% com BTS, sendo também diferentes ( $P < 0,05$ ). Os valores para vigor 2, diferiram entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ) às 24 h (PIGPEL-5 62,5% e BTS 37,5%), mas não foram diferentes ( $P > 0,05$ ) às 48 h de acondicionamento (PIGPEL-5 50% e BTS 50%). A motilidade não foi diferente ( $P > 0,05$ ), para cada diluente em cada período de acondicionamento após o TET, obtendo-se os seguintes resultados após 24 e 48 h, respectivamente: PIGPEL-5: 48,0% ± 1,9 e 39,1% ± 2,0; BTS: 46,0% ± 1,9 e 38,0% ± 2,0 (Tabela 1). Os resultados descritos na Tabela 2 revelam um adequado desempenho quanto à manutenção da integridade morfológica dos espermatozoides após o acondicionamento em 24 e 48 h, o que difere dos resultados costumeiramente obtidos pelo acondicionamento de sêmen a 5°C. O percentual médio de células espermáticas que, após a coleta, responderam ao CHIPO com enrolamento ou dobra da cauda (EDC), foi de 44,3 ± 14,5. Após 24 h de acondicionamento, o sêmen diluído com BTS apresentou 33,1% ± 0,9 de EDC e com PIGPEL-5 de 8,2% ± 0,9, sendo diferentes entre si ( $P < 0,05$ ). Já após 48 h de acondicionamento o EDC para BTS e PIGPEL-5 foi de 24,3% ± 1,1 e 7,2% ± 1,1, respectivamente, sendo também diferentes entre os dois tratamentos ( $P < 0,05$ ). De acordo com este mecanismo, os valores observados quando o sêmen foi diluído com PIGPEL-5 e acondicionado por 24 e 48 h, pode indicar prejuízos na capacidade funcional dos espermatozoides, provavelmente devido a distúrbios estruturais na membrana.

**CONCLUSÕES**

Os resultados deste experimento demonstram que o diluente PIGPEL-5 é capaz de manter a viabilidade espermática após armazenamento à 5°C, comparado com sêmen acondicionado com BTS à 17°C, quando considerado a motilidade, o vigor e a morfologia espermática, o teste do estresse térmico e o teste do choque hiposmótico.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. ALMOND, G.W. ; BRITT, J. ; FLOWERS, B.; GLOSSOP, C.; LEVIS, D.; MORROW, M.; SEE, T. The swine AI book. 2nded. North Carolina : Ed. **Ruth Cronje**; North Carolina State University, 1998.
2. CORRÊA, M.N. Avaliação in vitro e in vivo de sêmen suíno preservado a 5°C com o diluente PIGPEL-5. **Tese de Doutorado em Biotecnologia**. UFPel/RS/Brazil. p. 138. 2002.
3. DE LEEUW, F.E., COLENBRANDER, B., VERKLEIJ, A.J. The role membrane damage plays in cold shock and freezing injury. **Reprod. Domest. Anim. Suppl.** 1, 95–104. 1990.
4. FISER, P.S.; HANSEN, C.; UNDERHILL, L.; MARCUS, G.J. New thermal stress test to assess the viability of cryopreserved boar semen. **Cryobiology**. v. 28, p. 454-459. 1991.
5. 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.
6. SAS®. **SAS/STAT User's Guide** (Release 6.03). SAS Inst. Inc., Cary, NC. 1991.
7. WATSON, P.F.; GREEN, C.E. Cooling and capacitation of boar spermatozoa: What do they have in common? In: Johnson, L.A., Guthrie, H.D. Eds. , Boar Semen Preservation. **Proc. IV Int. Conf. Boar Semen Preservation**. Beltsville, Maryland USA, p. 35-41. 2000.

**Tabela 1:** Motilidade espermática após o TET às 24 e 48 h de acondicionamento com BTS e PIGPEL-5\*

Tratamento	Motilidade (%)	
	24 horas	48 horas
PIGPEL-5	48,0 ± 1,9	39,1 ± 2,0
BTS	46,0 ± 1,9	38,0 ± 2,0
Média ± DP	46,0 ± 17,1	37,6 ± 19,4

\*Médias ± erro padrão não diferiram por pelo menos P > 0,05

**Tabela 2:** Anormalidades de acrossoma, cabeça e cauda por diluente, após 24 e 48 h de acondicionamento

Anormalidades	Após coleta ± DP* (%)	24 horas ± EP** (%)	48 horas ± EP** (%)
<b>Acrossoma</b>			
PIGPEL-5	0,2 ± 0,5	3,7 ± 0,3 a	4,1 ± 0,4 a
BTS	0,2 ± 0,5	1,0 ± 0,3 b	2,6 ± 0,4 b
<b>Cabeça</b>			
PIGPEL-5	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2 c	3,1 ± 0,3 c
BTS	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2 c	3,1 ± 0,3 c
<b>Cauda</b>			
PIGPEL-5	3,3 ± 2,1	4,3 ± 0,4 d	5,3 ± 0,4 d
BTS	3,3 ± 2,1	3,6 ± 0,4 d	6,1 ± 0,4 d

\*Médias ± erro padrão não diferiram por pelo menos P > 0,05