

AVALIAÇÃO PÓS-DESCONGELAÇÃO E DO SEDIMENTO OBTIDO POR DOIS MÉTODOS DE SEPARAÇÃO ESPERMÁTICA, DO SÊMEN CONGELADO EM MEIO DILUIDOR SUPLEMENTADO COM ANTIOXIDANTE NATURAL (NP)

CLAITON EMERSSON COGO¹, JULIA MARA FRIGO^{2,3*}, MATHEUS RAMOS ROSIN⁴, CAMILA KETERINE GORZELANSKI TRENKEL⁴, ADALGIZA PINTO NETO⁵

1 Introdução

A criopreservação do sêmen é amplamente utilizada em programas de fertilização *in vitro* (FIV) da espécie bovina, porém o processo de congelação e descongelação pode comprometer a qualidade dos espermatozóides, ao reduzir a motilidade e a capacidade de fertilizar o oócito. Diante disso, a adição de antioxidantes naturais, como o extrato da casca de noz-pecã (NP), aos meios de diluição e a utilização de métodos de separação espermática, como o gradiente de Percoll e a lavagem, podem contribuir para a seleção de espermatozoides com melhores parâmetros e maior capacidade de fertilização (JUNIOR & SIQUEIRA, 2025; HUSSAIN, 2018 e RIBEIRO, 2022).

2 Objetivos

Avaliar a qualidade espermática do sêmen bovino pós-descongelação em meio diluidor TRIS-gema suplementado com diferentes concentrações de antioxidante natural (NP) e em dois métodos diferentes de separação espermática, sendo eles gradiente de Percoll e meio de lavagem, a fim de determinar os efeitos do uso de antioxidante natural (NP) sobre a fertilidade em protocolos de manipulação de sêmen bovino.

1 Titulação acadêmica: Graduando em medicina veterinária, instituição: Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, **Autor**. contato: claiton.cogo@estudante.uffs.edu.br

2 Titulação acadêmica: Graduanda em medicina veterinária, instituição: Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, **Coautora**.

3 Grupo de Pesquisa: Laboratório de Reprodução Animal

4 Titulação acadêmica: Mestres em reprodução animal, instituição: Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, **Coautores**.

5 Titulação acadêmica: Doutora em reprodução animal, instituição: Universidade Federal de Minas Gerais, **Orientadora**.

3 Metodologia

Foram utilizadas neste estudo duas partidas de sêmen de um único reprodutor, congeladas em estudo anterior utilizando o diluidor TRIS-gema nas palhetas, suplementado com diferentes concentrações de antioxidante natural (NP): 0,0% NP (Controle), 0,5% NP, 0,75% NP e 1,0% NP. As doses foram descongeladas em banho-maria por 30 segundos e as amostras de sêmen foram homogeneizadas em tubos eppendorf, em seguida foram avaliadas pelo CASA (IVOS-IIR®, Hamilton Thorne; TRENKEL, 2024).

Os parâmetros considerados foram os referentes à cinética e à trajetória espermática, sendo eles % (porcentagem) de células móveis, % de células progressivas, % de células estáticas, VAP (velocidade de percurso médio), LIN (linearidade), STR (retidão) e OWB (oscilação). Essas avaliações foram feitas após a descongelação, e no sedimento do sêmen obtido por dois métodos de separação espermática: gradiente de Percoll e lavagem.

Sendo assim, essas amostras foram submetidas ao gradiente de Percoll® (em eppendorf contendo 700µL de Percoll 45 e 90% + 250 µL sêmen, centrifugado a 1.440G/6 minutos; 100µL deste sedimento foi diluído em 700µL de TL-sêmen e centrifugado a 480G/6 minutos, 100µL do sedimento foram avaliados) e ao método de lavagem (eppendorf 250µL sêmen + 700µL de TL-sêmen, centrifugação a 480G/6 minutos; 100µL do sedimento foi diluído em 700µL de TL-sêmen, centrifugado a 480G/6 minutos, 100µL do sedimento foram avaliados), e avaliadas pelo CASA.

Os dados foram tabulados, analisados e processados pelo programa SAS, suas médias foram comparadas pelo Teste T de Student, considerando 5% de significância.

4 Resultados e Discussão

Os resultados do estudo estão descritos na tabela 1.

GRUPO EXPERIMENTAL	TÉCNICA	% CÉLULAS MÓVEIS	% CÉLULAS PROGRESSIVAS	% CÉLULAS ESTÁTICAS	VAP (VELOCIDADE DE PERCURSO MÉDIO)	LIN (LINEARIDADE)	STR (RETIDÃO)	WOB (OSCILAÇÃO)
CONTROLE	DESCONGELADO	32,05	11,5	67,95	62,49	42,79	83,90	53,33
CONTROLE	LAVAGEM	18	9,45	82	72,70	39,19	77,76	53,08
CONTROLE	PERCOLL	23,35	15,6	76,65	63,66	17,40	43,46	33,28
NP 0,5 %	DESCONGELADO	11,3	2,9	88,7	47,32	49,73	80,32	60,52
NP 0,5 %	LAVAGEM	17	8,95	83	100,29	46,72	77,26	58,80
NP 0,5 %	PERCOLL	16,7	14,3	83,3	72,31	39,08	62,14	59,18
NP 0,75 %	DESCONGELADO	30,8	12,5	69,2	63,20	40,66	84,90	50,99
NP 0,75 %	LAVAGEM	28,35	10,5	71,65	52,49	74,82	97,95	76,52
NP 0,75 %	PERCOLL	22,4	11,2	77,6	58,17	39,04	79,27	50,36
NP 1%	DESCONGELADO	25,5	11,25	74,5	53,63	45,58	88,13	57,93
NP 1%	LAVAGEM	23,6	8,75	76,4	75,51	37,09	70,82	49,97
NP 1%	PERCOLL	19,65	17,85	80,35	100,87	57,52	91,26	62,99

Tabela 1: Resultados do estudo.

Observou-se uma tendência de melhoria em alguns parâmetros como motilidade progressiva e velocidade após o uso do Percoll para separação espermática, principalmente nas amostras com 0,5% de antioxidante natural. Este dado corrobora com Morrell e Rodríguez-Martínez (2016) e Cariati et al. (2024) ao relatarem que o gradiente de Percoll tem capacidade de selecionar espermatozoides com maior motilidade, melhor integridade de membrana e maior potencial funcional. Porém, Cariati et al. (2024) relataram que o Percoll não elimina completamente células com alterações oxidativas, o que reforça a necessidade de técnicas alternativas para reduzir os danos causados pela criopreservação (MORRELL, RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, 2016; CARIATI et al., 2024).

Na concentração de 0,5% de suplementação com NP observou-se desempenho discretamente superior em relação às outras concentrações. Entretanto estudos demonstraram que a eficácia dos antioxidantes dependem do composto utilizado, da concentração utilizada e da interação com o meio diluidor, não havendo uma concentração padrão ideal para todas as espécies e protocolos de criopreservação (BISHT et al., 2017; SAPANIDOU et al., 2023).

Até o momento da pesquisa os dados são inconclusivos, ao se considerar o número de partidas analisadas, mas sugerem que a utilização do gradiente de Percoll pode ser uma ferramenta para melhoria de parâmetros de motilidade e velocidade dos espermatozoides após descongelamento e/ou após adição de 0,5% de NP ao meio diluidor.

5 Conclusão

O gradiente de Percoll apresenta potencial para melhorar parâmetros da cinética espermática após a descongelação, especialmente quando associado à suplementação do meio diluidor com antioxidante natural (NP).

Referências Bibliográficas

BISHT, S.; FAIQ, M.; TOLAHUNASE, M.; DADA, R. Oxidative stress and male infertility. **Nature Reviews Urology**, 2017.

CARIATI, F.; ORSI, M. G.; BAGNULO, F.; DEL MONDO, D.; VIGILANTE, L.; DE ROSA, M.; SCIORIO, R.; CONFORTI, A.; FLEMING, S.; ALVIGGI, C. Advanced sperm selection techniques for assisted reproduction. **Journal of Personalized Medicine**, 2024.

HUSSAIN, Mokhtar et al. Additives used in semen preservation in animals: A short review. **International Journal of Chemical Studies**, 2018.

JUNIOR, Marcio; SIQUEIRA, Adriano. Estresse oxidativo do sêmen bovino na produção in vitro de embriões. **Revista Acadêmica Online**, 2025.

MORRELL, J. M.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H. Practical applications of sperm selection techniques as a tool for improving reproductive efficiency. **Veterinary Medicine International**, 2016.

RIBEIRO, V. H. A. et al. Avaliação da qualidade do sêmen bovino criopreservado com diluidores de origem animal e vegetal. **Brazilian Journal of Development**, 2022.

SAPANIDOU, V.; TSANTARLIOTOU, M. P.; LAVRENTIADOU, S. N. A review of the use of antioxidants in bovine sperm preparation protocols. **Animal Reproduction Science**, 2023.

TRENKEL, Camila Keterine Gorzelanski. Sêmen bovino congelado e descongelado acrescido de extrato natural (NP) com potencial antioxidante. Orientadora: Doutora Adalgiza Pinto Neto. 2024. Dissertação (mestrado) – Programa de pós-graduação em saúde, bem-estar e produção animal sustentável na fronteira sul, Universidade Federal da Fronteira Sul, Realeza, 2024.

Palavras-chave: criopreservação; cinética espermática; fertilidade; FIV.

JIC

JORNADA DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
E TECNOLÓGICA

XVI EDIÇÃO

MENINAS E MULHERES NA CIÊNCIA

19 a 21 de
outubro 2026

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2025-0383

Financiamento

