

TAXA DE GESTAÇÃO DE VACAS SUBMETIDAS A IATF COM SÊMEN CONGELADO ACRESCIDO DE EXTRATO NATURAL (NP)

Camila Keterine Gorzelanski Trenkel

Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Realeza, Paraná
catrenkel@gmail.com

Adalgiza Pinto Neto

Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Realeza, Paraná
adalgiza.neto@uffs.edu.br

Eixo 05: Ciências Agrárias

RESUMO

A inseminação artificial (IA) tem grande destaque na reprodução de bovinos, sendo a principal responsável pelo aumento da qualidade e ganho genético dos rebanhos no Brasil. Embora a conservação do sêmen pelo frio traga diversas vantagens na reprodução animal, pode ocasionar injúrias ao espermatozoide causando a diminuição da viabilidade celular, devido ao excesso de espécies reativas ao oxigênio (EROs) que causa estresse oxidativo na célula. Portanto, a adição de protetores na diluição do sêmen, tal como, antioxidantes, auxiliam na redução e neutralização destes radicais, neutralizando os efeitos deletérios e possibilitando a manutenção e viabilidade celular dos espermatozoides. Objetivou-se com esse estudo, avaliar a taxa de gestação de 21 vacas Nelore/Brangus submetidas a um protocolo de inseminação em tempo fixo (IATF), utilizando-se sêmen resfriado, acrescido de um composto natural com propriedade antioxidante (NP). Para tanto, 21 palhetas foram resfriadas, contendo sêmen bovino diluído em meio TRIS-gema de ovo, na concentração de 30 milhões de espermatozoides móveis por palheta (0,5 mL). Em dez palhetas o diluente TRIS-gema foi acrescido de 5% do composto natural (NP). As palhetas foram resfriadas por 24 horas em caixa isotérmica (BotuFlex®) quando então utilizadas para IATF. Evidenciou-se taxa de gestação de 66,66% (14/21) das fêmeas inseminadas, sendo que 81,81% (9/11) deles foram inseminados com sêmen resfriado sem nenhum aditivo e 50,00% (5/10) inseminados com sêmen resfriado adicionado com NP. Esses dados parciais não permitem concluir o efeito do aditivo adicionado no sêmen resfriado sobre a taxa de gestação após a IATF, uma vez que o número de animais foi muito reduzido, enfatizando a necessidade da continuidade da pesquisa, para a conclusão do estudo.

Palavras-chave: Antioxidante. Estresse oxidativo. Fertilidade.

INTRODUÇÃO

Nota-se que nos últimos anos, a utilização em grande escala de biotecnologias da reprodução, viabilizaram a obtenção de animais geneticamente superiores, bem como a padronização dos rebanhos e maximização da eficiência produtiva e reprodutiva dos plantéis (BOZZI, *et al.*, 2023). Sabe-se que os espermatozoides são susceptíveis a danos causados por

EROs em virtude da maior concentração de ácidos graxos poliinsaturados em sua membrana plasmática (BOZZI, *et al.*, 2023). Dessa forma, a fim de minimizar a ação deletéria das EROs sobre as células espermáticas, têm-se sugerido métodos alternativos para potencializar a qualidade do sêmen após a criopreservação (SAVI, *et al.*, 2015). Neste contexto, estudos em torno da utilização de compostos antioxidantes nos meios diluidores, são de grande relevância para elucidar a melhor concentração a ser adicionada ao sêmen, a fim de controlar os efeitos do estresse oxidativo e melhorar os parâmetros espermáticos pós-descongelamento de motilidade e capacidade fertilizante (BRANCO, *et al.*, 2020).

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo encontra-se aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – UFFS, protocolo CEUA nº 7996181021, e foi realizado no Laboratório de Reprodução Animal – LABRA, da Superintendência Unidade Hospitalar Veterinária Universitária (SUHVU), *Campus Realeza* – UFFS, em parceria com uma propriedade privada, localizada no Município de Bela Vista de Caroba, Paraná. Coletou-se sêmen de um reprodutor da Raça Braford, submetido e aprovado após avaliação andrológica (CBRA, 2013), com escore de condição corporal (ECC) 4,5, seguindo a escala de 1-5, proposta por Meneghetti e Vasconcelos (2008).

A coleta de sêmen foi realizada mediante método de eletroejaculação (CBRA, 2013), sendo o ejaculado coletado em tubo plástico graduado do tipo Falcon de 15 mL, protegido da luz e temperatura. O sêmen fresco foi submetido à avaliação, pelo sistema de análise computadorizada (CASA – Hamilton Thorne®), apresentando concentração espermática de 135,5 milhões espermatozoides/mL e 83,5% motilidade.

Após avaliação do sêmen, certificado sua viabilidade, o sêmen fresco foi acrescido do diluente TRIS-GEMA. Para o envase das palhetas de sêmen, considerou-se a dose de 30 milhões de espermatozoides móveis por palheta de 0,5 mL. Assim, envasou-se 11 palhetas com o sêmen diluído com TRIS-GEMA. Outras dez palhetas foram envasadas com sêmen diluído com TRIS-GEMA acrescido de 5% (0,005 mL) de um extrato natural com potencial antioxidante (NP).

Após o envase, todas as palhetas foram resfriadas por 24 horas, em caixa isotérmica (Botuflex®), com o objetivo de atingir 4°C, com a taxa de resfriamento de menos 0,14°C/minuto. Para atingir a curva de resfriamento, as caixas isotérmicas foram montadas quatro horas antes de serem fechadas. Após 24 horas, a caixa isotérmica foi aberta e as

palhetas utilizadas para inseminação artificial de vacas bovinas, previamente submetidas a protocolo hormonal para IATF.

Para a IATF utilizou-se um protocolo hormonal de três manejos, como se segue:

D0 (dia zero): inserção do implante intravaginal de Progesterona + administração de 2 mL Benzoato de Estradiol por via intramuscular (IM); D8 (dia oito): remoção do implante de Progesterona + administração de 2mL Prostaglandina + 1,5 mL Gonadotrofina Coriônica Equina + 1,0 mL Cipionato de Estradiol, por via intramuscular (IM); D10 (dia dez): inseminação artificial, que será realizada por profissional treinado e qualificado. Aos 45 dias após protocolo de IATF, foi realizado o diagnóstico de gestação transretal, mediante ultrassonografia, sendo considerada gestação a presença de vesícula embrionária, embrião e/ou batimento fetal.

Os dados coletados foram organizados e tabulados em planilhas e submetidos a análise descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A taxa de gestação das fêmeas foi de 66,67% (14/21), após IATF utilizando-se sêmen resfriado. Dados semelhantes ao relatado por Barcelos e Savi (2022), que utilizando um protocolo IATF, obtiveram uma taxa média de gestação correspondente a 65% com o uso de sêmen resfriado e 59% com sêmen congelado. Ao se considerar os resultados de gestação após IATF, utilizando sêmen resfriado sem e com aditivo natural (NP), encontrou taxa de gestação de 81,81% (09/11) e 50% (05/10), respectivamente.

O acréscimo de antioxidantes durante a diluição, têm a finalidade de aumentar a viabilidade espermática, sendo que estes compostos protegem a membrana celular contra as espécies reativas ao oxigênio (EROs) (NORDBERG; ARNÉR, 2001).

As altas concentrações de EROs no sêmen, geralmente ocorrem quando há declínio no metabolismo de energia dos espermatozoides, causando a desnaturação do DNA espermático, diminuição da motilidade, viabilidade e integridade acrossomal (BAUMBER *et al.*, 2000; KRZYZOSIAK *et al.*, 2000). Conforme Krzyzosiak *et al.* (2000), o acréscimo de antioxidantes ao diluente do sêmen, melhora significativamente a motilidade e viabilidade do espermatozoide.

Quanto ao efeito do uso de antioxidantes sobre a taxa de gestação em bovinos, Almeida (2015), analisou a taxa de gestação de novilhas Nelore, inseminadas em um

protocolo IATF, com sêmen congelado acrescido de Glutathione, evidenciado que não houve diferença significativa entre a taxa de gestação do grupo controle e o grupo acrescido do composto antioxidante, relatando 38,33% de gestação para ambos os grupos. Enquanto, que Grillo et al. (2015) também utilizando a Glutathione observou que apesar da taxa de gestação não ter apresentado diferença significativa entre o grupo controle e o grupo acrescido, a Glutathione auxiliou na conservação do sêmen, preservando a motilidade espermática.

Entretanto, são escassos os estudos analisando a taxa de gestação de bovinos inseminados em um protocolo IATF com o acréscimo de antioxidantes na diluição do sêmen resfriado.

Ao considerar a categoria das 21 fêmeas estudadas e submetidas a IATF, 71,43% (15/21) são múltiparas, 19,05% (4/21) primíparas e 9,52% (2/21) novilhas, das quais 66,67% (10/15), 50,00% (2/4) e 100% (2/2) delas tornaram-se gestantes, respectivamente.

Grillo et al. (2015) compararam a taxa de fertilidade de novilhas, primíparas e múltiparas submetidas a um protocolo IATF, e constataram que a categoria animal tem influência sobre a taxa de fertilidade de bovinos durante a reprodução, demonstrando que as novilhas apresentaram excelentes resultados, seguidos pelas múltiparas e por último as primíparas, com taxas de gestação de 86%, 76,8% e 45,3% respectivamente. Apesar do baixo número de animais utilizados neste estudo, e das diferenças numéricas das taxas de gestação em cada categoria, ao se comparar esse estudo ao de Grillo et al. (2015), a classificação dos animais foi semelhante à observada neste estudo.

CONCLUSÃO OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições desse estudo, os dados parciais obtidos não permitem concluir o efeito do aditivo natural adicionado no sêmen resfriado sobre a taxa de gestação após a IATF, uma vez que o número de animais foi muito reduzido, enfatizando a necessidade da continuidade da pesquisa, para a conclusão do estudo.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná e aos Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável da Fronteira Sul.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D. S. Concepção de novilhas *Bos indicus* utilizando sêmen criopreservado com antioxidante e IGF-1. 2015. Tese de Doutorado. UEMA.
- BAUMBER, J. et al. The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential, and membrane lipid peroxidation. **Journal of andrology**, v. 21, n. 6, p. 895-902, 2000.
- BARCELOS, R. D. O.; SAVI, P. C. F. Uso de sêmen resfriado e congelado em programas de inseminação artificial em tempo fixo em bovinos. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 8, n. 10, p. 4217–4229, 14 nov. 2022. Disponível em: <https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/7414>. Acesso em: 22/04/2023.
- BOZZI, A. D. R. et al. Adição de sucos de laranja, abacaxi e beterraba em diluidor para criopreservação de sêmen de carneiros. **Ciência Animal Brasileira**, v. 24, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cab/a/9gLjnNC3WxfQ7rvhNxTHvMP/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 22/04/2023.
- BRANCO, Y. N. T. C. C. et al. O uso do eugenol na criopreservação do sêmen bovino / the use of eugenol in the cryopreservation of bovine sêmen. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 11, p. 86336–86355, 2020. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/19581>. Acesso em: 22/04/2023.
- CBRA. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 2ª ed. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, MG. 45p, 2013.
- GRILLO, G. F. et al. Comparação da taxa de prenhez entre novilhas, primíparas e múltiparas da raça Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 37, n. 3, p. 193-197, 2015.
- KRZYZOSIAK, J. et al. Changes in susceptibility of bovine sperm to in situ DNA denaturation during prolonged incubation at ambient temperature under conditions of exposure to reactive oxygen species and nuclease inhibitor. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 12, n. 6, p. 251-261, 2000.
- NORDBERG, J.; ARNÉR, E. SJ. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free radical biology and medicine**, v. 31, n. 11, p. 1287-1312, 2001.
- MENEGHETTI, M.; VASCONCELOS, J. L. M. Mês de parição, condição corporal e resposta ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 4, p.786-793, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000400002>. Acesso em: 22/04/2023.
- SAVI, P. A. P. et al. Uso de antioxidantes em meios diluidores para sêmen ovino: revisão de literatura /Use of antioxidants in semen extenders for sheep: literature review. **ARS VETERINARIA**, v. 31, n. 1, p. 12–018, 2015. Disponível em: <https://www.arsveterinaria.org.br/index.php/ars/article/view/800>. Acesso em: 22/04/2023.