

CONSIDERAÇÕES SOBRE A CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN CAPRINO

Camila Oliveira Silveira¹; José Domingos Guimarães²;
Ronaldo Oliveira Silveira³; Madriano Christilis⁴;
Ludmila Souza Fernandes¹

Resumo: *A inseminação artificial em caprinos vem sendo bastante difundida em propriedades com maior nível tecnológico; a criopreservação de sêmen serve como ferramenta de auxílio, em que o reprodutor pode aumentar o número de descendentes, além da possibilidade do sêmen permanecer armazenado por grande período de tempo. Para o processo de criopreservação, o meio diluidor, a taxa de resfriamento e o crioprotetor utilizado possuem papel de fundamental importância para a garantia da qualidade do sêmen congelado.*

Palavras-chave: *caprinos; crioprotetores; criopreservação; sêmen.*

Introdução

O processo de criopreservação seminal é complexo, sofrendo influência de fatores como a diluição, o descongelamento e a fisiologia do sêmen de cada espécie. Esse processo possibilita a utilização do sêmen por um longo período, reduzindo riscos e custos com a aquisição e transporte de reprodutores,

¹ Pós-Graduandas do curso de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG; e-mail: camilaosilveira@hotmail.com; ² Professor do curso de Medicina Veterinária- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG; e-mail: jdguima@ufv.br; ³ Graduando do Curso de Medicina Veterinária - UNIVIÇOSA, Viçosa, MG; ⁴ Pós-Graduando do curso de Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

bem como favorece a rápida difusão do material genético entre regiões, países e continentes (CASTILHO, 2008).

Objetivou-se realizar uma revisão sobre o método de criopreservação de sêmen caprino, demonstrando pontos essenciais da criopreservação seminal.

Revisão de Literatura

O processo de criopreservação do sêmen altera as características das membranas dos espermatozoides, interferindo em sua capacidade fertilizante. Os espermatozoides submetidos a esse processo sofrem injúrias e morte, em razão da formação de gelo no interior dele, fenômeno esse que ocorre quando o resfriamento é feito de forma rápida; em contrapartida, pode ocorrer o desenvolvimento de regiões de elevada concentração de soluto, que desidratam a célula quando o resfriamento ocorre de forma lenta. Portanto, uma adequada taxa de resfriamento é necessária para prevenir danos estruturais, bioquímicos e biofísicos a membrana (AZEVEDO *et al.*, 2000).

Segundo Machado e Simplício (1995), o ritmo de refrigeração do sêmen caprino deve estar entre $-0,25$ e $-0,35$ °C/minuto, até a temperatura de 5 °C ser atingida. O sêmen deve ser resfriado da temperatura corpórea (37 °C) à temperatura ambiente (20 °C), pois o estresse inicial ocorre quando o espermatozoide passa da temperatura corporal para 5 °C, por causa da fase de transição da membrana plasmática do estado líquido cristalino para o de gel (GRAHAM, 1996). Caso o resfriamento seja feito de maneira inadequada, o espermatozoide sofre choque térmico, acarretando danos irreversíveis como alterações nos padrões normais de motilidade, perda rápida da motilidade, danos no metabolismo da membrana plasmática e do acrossoma (GRAHAM, 1996).

Os crioprotetores podem ser classificados em penetrantes e não penetrantes, em que o primeiro consiste em substâncias ou fármacos que diminuem as lesões de origem química ou mecânica que a criopreservação causa à célula; os não penetrantes aumentam a osmolaridade do meio extracelular e são responsáveis pela passagem da água do interior da célula espermática para o meio extracelular, impedindo a formação de cristais de gelo em seu interior durante a criopreservação. Esses agentes, tanto penetrantes quanto não penetrantes, devem possuir baixo peso molecular, elevada solubilidade em meio aquoso e baixa toxicidade celular (GONZALEZ, 2004).

A gema de ovo ou o leite desnatado são exemplos de crioprotetores não penetrantes, que protegem as células contra o choque térmico. Já o glicerol, dimetilsulfóxido (DMSO) e o etilenoglicol são exemplos de crioprotetores penetrantes. Tanto o penetrante quanto o não penetrante são encontrados em diluentes de sêmen utilizados para o congelamento, juntamente com uma fonte de energia, que pode ser a glicose ou frutose, um componente tampão (citrato de sódio ou hidroximetil aminometano – TRIS) e um antibiótico, como penicilina, estreptomicina ou gentamicina, que previnem o crescimento bacteriano (EVANS; MAXWELL, 1987). A taxa de diluição do sêmen caprino varia de 1:1 (sêmen: diluente) a 1:23, obtendo 200×10^6 espermatozoides/mL (NUNES, 2002).

Após as diluições, o sêmen deve ser envasado em palhetas de 0,25 mL, em temperatura ambiente; posteriormente, essas são colocadas em um tubo de ensaio de 20 mL revestido por um refil de saco plástico, que é alocado em recipiente plástico, com capacidade para 240 mL, contendo 120 mL de álcool etílico absoluto. Esse recipiente é mantido na posição horizontal dentro da geladeira, com temperatura interna de 4° a -5° C, durante 60 min (PENITENTE FILHO, 2010).

O congelamento pode ser realizado de forma horizontal ou vertical. Na primeira forma, colocam-se as palhetas sobre um suporte de aço inox, à altura de 5 cm da lâmina de nitrogênio líquido, acondicionado em uma caixa de isopor, permanecendo a essa altura por 14 minutos. Depois, essas palhetas são imersas no nitrogênio líquido para o congelamento final, sendo em seguida raqueadas, devidamente identificadas e armazenadas em botijão com nitrogênio (CASTILHO, 2008). Na forma vertical, as palhetas são dispostas, verticalmente, sobre uma grade, permanecendo a 5 cm de distância da lâmina de nitrogênio líquido, durante 15 minutos. Após esse tempo, as palhetas são mergulhadas em nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ para o congelamento final e, em seguida, colocadas em raques e armazenadas em botijão contendo nitrogênio líquido (PENITENTE FILHO, 2010).

Considerações Finais

A escolha do agente crioprotetor deve obedecer aos requisitos exigidos para aumentar a proteção das células espermáticas, garantindo a qualidade do congelamento. O modo pelo qual o sêmen é resfriado precisa estar de acordo com a curva de congelamento, a fim de evitar maiores danos à membrana dos espermatozoides. O envase e o armazenamento também são eventos que podem influenciar na qualidade do sêmen pós-descongelamento.

Referências

AZEVEDO, H. C. et al. Características do sêmen caprino congelado: influência do tipo de palheta e concentração espermática. *Revista Ciência Rural*, v. 5, n.2, p. 148-157, 2000.

- CASTILHO, E. F. Uso da própolis e do ácido ascórbico na criopreservação do sêmen caprino. 2008. 63 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.
- EVANS G.; MAXWELL W. M. C. Frozen storage of semen. In: SALAMON'S. Artificial Insemination of Sheep and Goats. Wellington: Butterworths, 1987. p. 122–141.
- GONZALEZ R. A. F. Efeito da criopreservação usando diferentes técnicas de congelamento e crioprotetores sob parâmetros espermáticos e a integridade de membranas no espermatozoide bovino. 2004. 94 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2004.
- GRAHAM, J. K. Cryopreservation of stallion spermatozoa. Veterinary Clinic of North American: Equine Practice, v.12, p.131-147, 1996.
- MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A. A. Inseminação artificial em caprinos no Brasil: estágio atual. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 19, p. 61-72, 1995.
- NUNES J. F. Inseminação artificial em caprinos. In: GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. São Paulo: Varela, 340p, 2002.
- PENITENTE FILHO, J. M. Adição da vitamina E na criopreservação do sêmen caprino. 2010. 55f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.