

Comparação de diluidores para a melhoria da qualidade do sémen congelado em ovinos: seu contributo para a manutenção da biodiversidade

João Pedro Sousa Santa Clara Barbas

INIAV-EZN-Unidade Biotecnologia e Recursos Genéticos

XIV Jornadas Internacionais HVME

Évora, 3-4 de Março 2023

Introdução

- ▶ A maioria das raças ovinas autóctones encontra-se ameaçada.
- ▶ Animais rústicos- Bem adaptados às difíceis condições edafoclimáticas.
- ▶ Produtos de grande qualidade nutritiva e organolética (produtos DOP, IGP, queijos, carnes).
- ▶ Genericamente são exploradas em regime extensivo/pastoreio, sendo suplementadas em determinadas épocas do ano de acordo com a pastagem disponível (espontânea) e ou estado fisiológico.

Introdução

- ▶ Essenciais para a manutenção da diversidade genética.
- ▶ Aproveitamento de pastos de fraca qualidade nutritiva e em locais de difícil acessibilidade.
- ▶ Contribuem para a diminuição de fogos rurais e para a fixação de populações jovens em regiões do interior;
- ▶ Será indispensável aumentar a produtividade das raças autóctones e a rentabilidade da sua exploração.
- ▶ Promover a intensificação reprodutiva desde que existam adequadas condições de exploração.
- ▶ É indispensável a conservação in situ e ex situ das raças autóctones.

Introdução

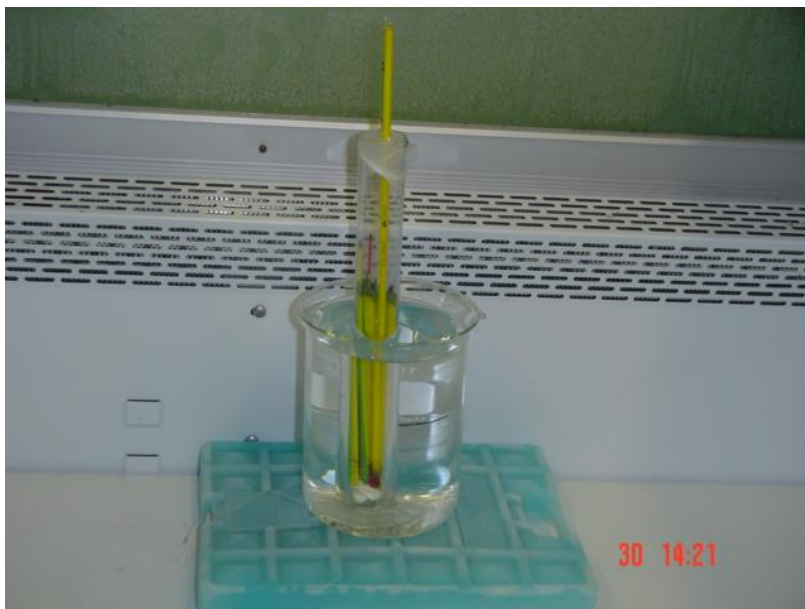
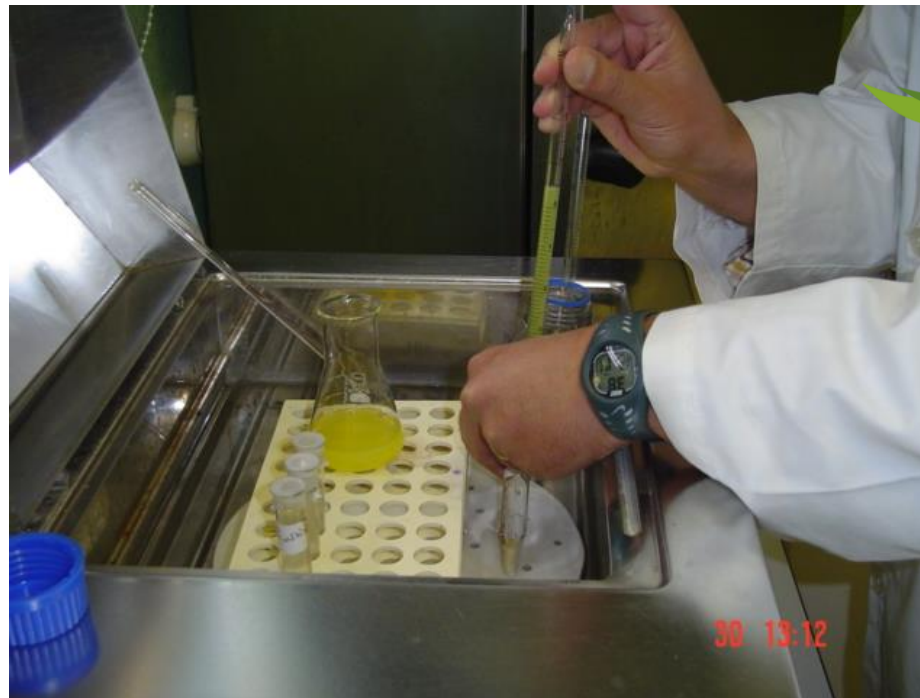
- ▶ A criopreservação de sémen permite diminuir o número de carneiros nos efectivos, diminuir os riscos sanitários, viabilizar a conservação duradoura de sémen e a sua exportação.
- ▶ Utilização de reprodutores de bom mérito genético associado à utilização de biotecnologias reprodutivas.
- ▶ A criopreservação de sémen é indispensável para o aumento de produtividade e preservação da diversidade genética das raças autóctones (bancos de germoplasma).
- ▶ A composição dos diluidores utilizados na criopreservação do sémen é um dos factores determinantes da congelabilidade do sémen dos carneiros.

Objectivos

- ▶ Neste trabalho pretendeu estudar-se e comparar o efeito do diluidor utilizado na criopreservação de sémen num conjunto de ejaculados (pool de ejaculados) recolhidos em 2 épocas do ano (Novembro e Maio) na congelabilidade de sémen de ovino através da avaliação de parâmetros seminais no sémen fresco (SF) e sémen congelado (SC) .
- ▶ Foram comparados os efeitos de 3 diluidores na congelação de sémen de ovino: 1 diluidor não comercial (EZN) contendo gema de ovo e 2 diluidores comerciais (criopreservação de sémen), Ovixcell® e Andromed® (ambos c/ lecitina de soja) através da quantificação de parâmetros seminais no sémen fresco (SF) e sémen congelado (SC).

Material e Métodos

- ▶ 2 carneiros de raça Merino (6 anos).
- ▶ 8 recolhas de sémen (vagina artificial); 4 (Novembro) e 4 (Maio).
- ▶ Requisitos de qualidade: $MI > 55\%$, $vol > 0,4\text{ ml}$ e concentração(espectrofotómetro) ($2 \times 10^6/\text{ml}$).
- ▶ Pool - (2 ejaculados/sessão) repartido por 3 alíquotas.
- ▶ 3 diluidores: EZN (Laboratório Andrologia) e 2 diluidores comerciais- Ovixcell® e Andromed®.
- ▶ Diluidor EZN (contendo gema de ovo) e Ovixcell® e Andromed® (sem gema de ovo), contendo lecitina de soja.
- ▶ Utilizou-se uma concentração de 800 milhões 10^6 spz/ml .

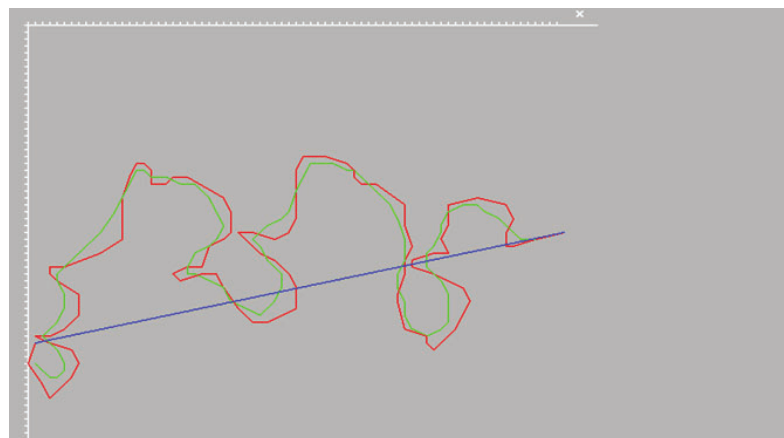
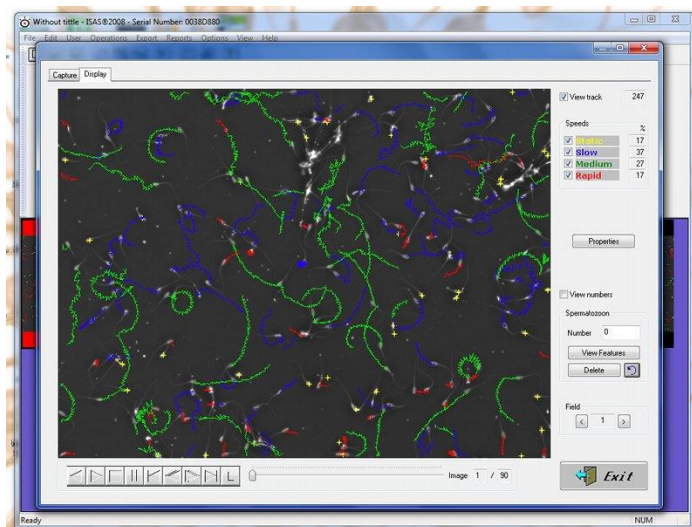
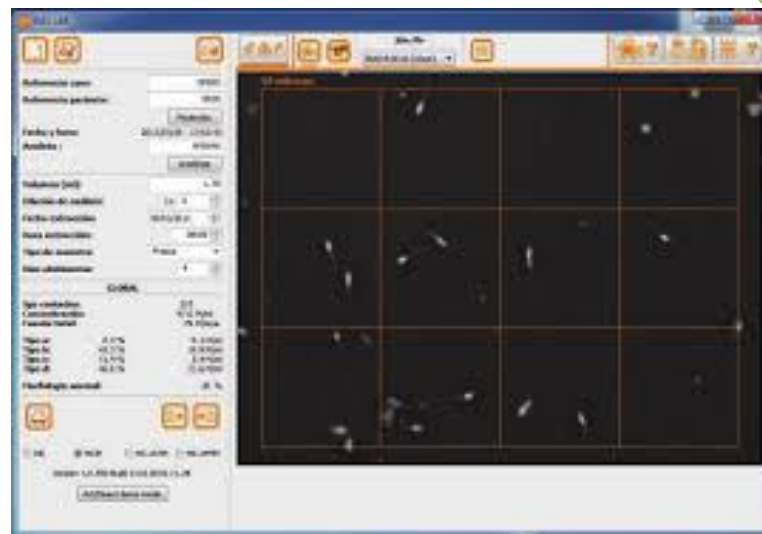
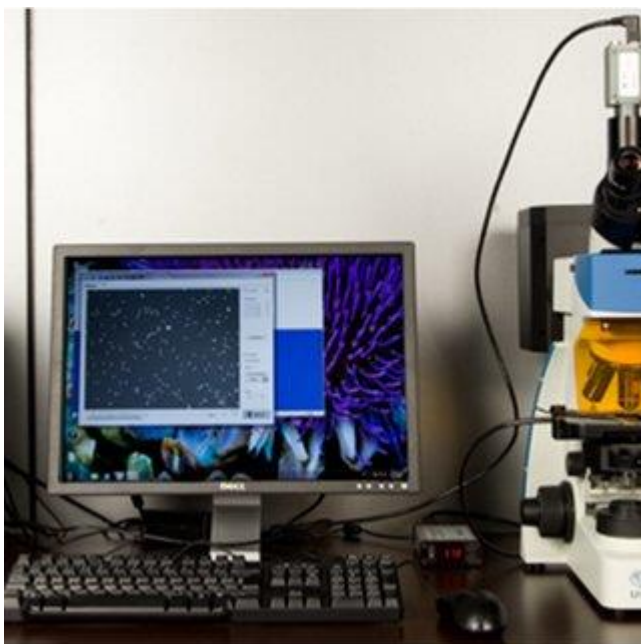


Material e Métodos

- ▶ No SF: Avaliação da MI (%) (subjectiva) e utilização do CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) na determinação da cinética do movimento dos espermatozoides após a diluição dos ejaculados.
- ▶ CASA- MT (Motilidade Total), TPM (Total Progressive motility), STR (Straightness), VSL (Straight line velocity) e BCF (Beat cross frequency).
- ▶ Avaliação de % de SPZ Vivos e Normais.
- ▶ Palhinhas (0,25 ml) (Cassou Straws®). Refrigeração (4 °C).
- ▶ Congelação (vapores de N2 líquido)- Float Freezing Chamber® (20 minutos).

Material e Métodos

- ▶ No SC- MI%, % de spz vivos e Normais e cinética do movimento espermático (CASA).
- ▶ Avaliação das interacções-Mês de Recolha (2 Épocas de recolha), diluidor (3 diluidores) e 2 tipos de Sémen (SF e SC).
- ▶ Utilização do Software JMP® 14 for Windows (SAS Institute, USA).

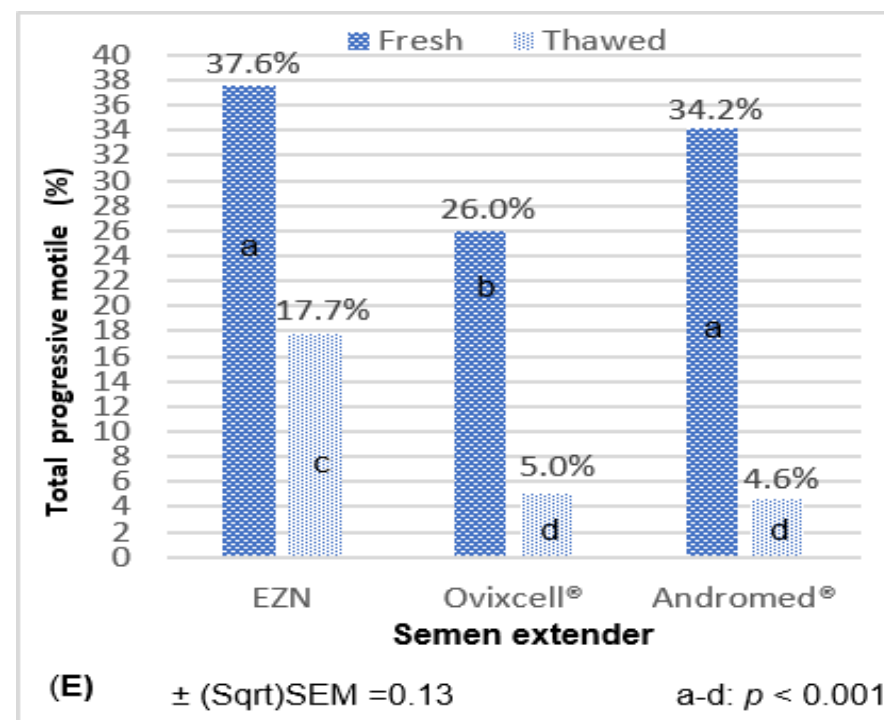
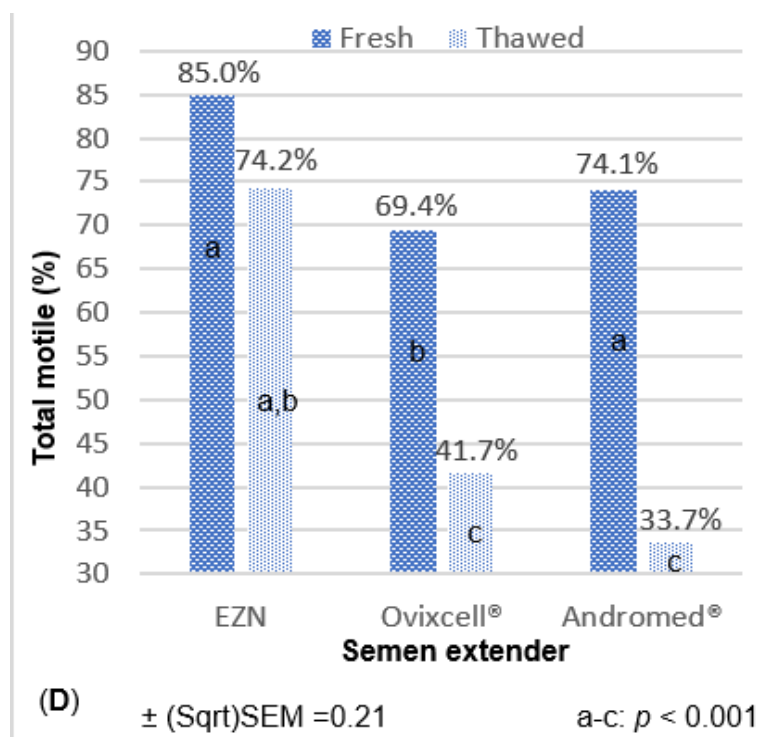


Resultados-SF

- ▶ Foram observadas interacções entre o Mês de recolha (2)* diluidor (3)* tipo de sémen (2).
- ▶ A interacção diluidor X tipo de sémen foi a mais frequente (72 %).
- ▶ No SF, a MT (motilidade total) e TPM (motilidade total progressiva) foram superiores com os diluidores EZN e Andromed. Nos restantes parâmetros avaliados não foram observadas diferenças entre os diluidores.

Resultados-SF

- No SF-EZN e Andromed: >MT e TPM.

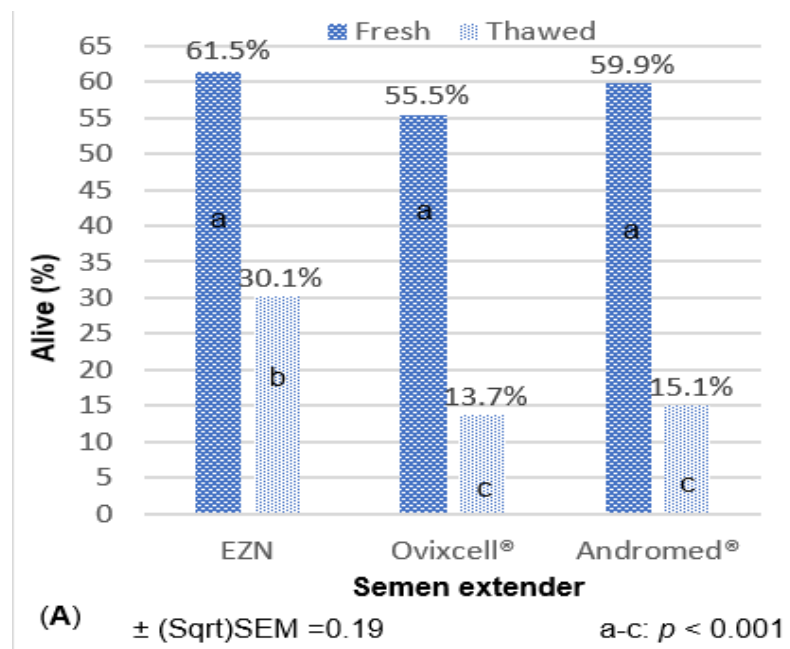
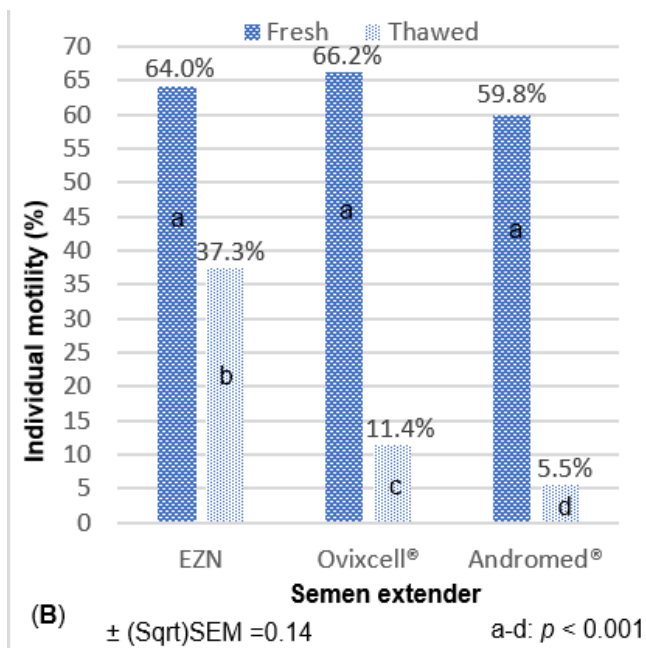


Resultados-SC

- ▶ Todos os parâmetros seminais diminuíram significativamente no SC vs SF.
- ▶ Diluidor EZN: > % de spz vivos, MI (%), e todos os parâmetros seminais avaliados pelo CASA (MT, TPM, STR, VSL, e BCF).
- ▶ Os diluidores comerciais apresentaram valores semelhantes exceptuando a MI (%) que foi superior no diluidor Ovixcell.
- ▶ Utilizando o diluidor EZN foram registados : 37,3 % (MI), 30,1 (% Spz vivos), 8,2 % (Spz anormais), 74,2 % (MT), 48 % (Rápidos) e 37,3 $\mu\text{m}/\text{seg}$ (STR).
- ▶ Estes resultados foram satisfatórios e enquadram-se nos resultados citados na bibliografia.

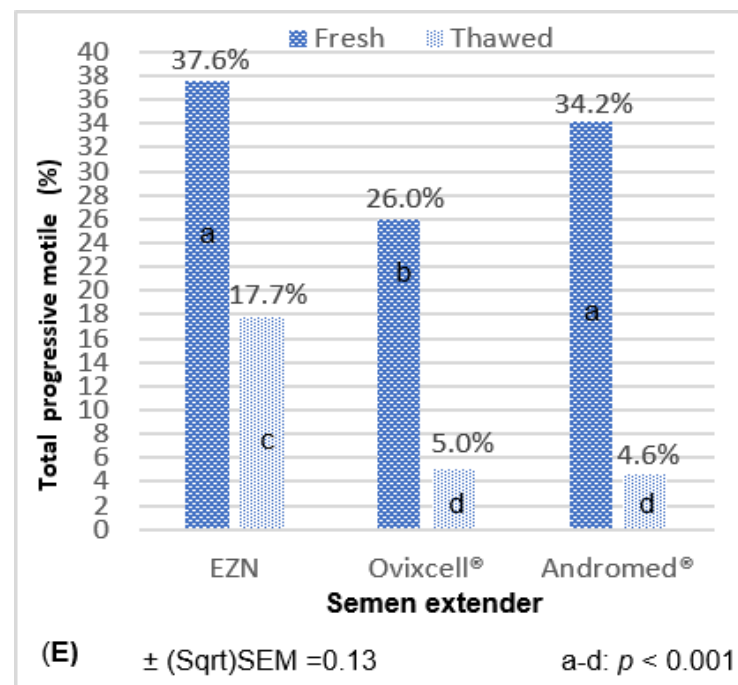
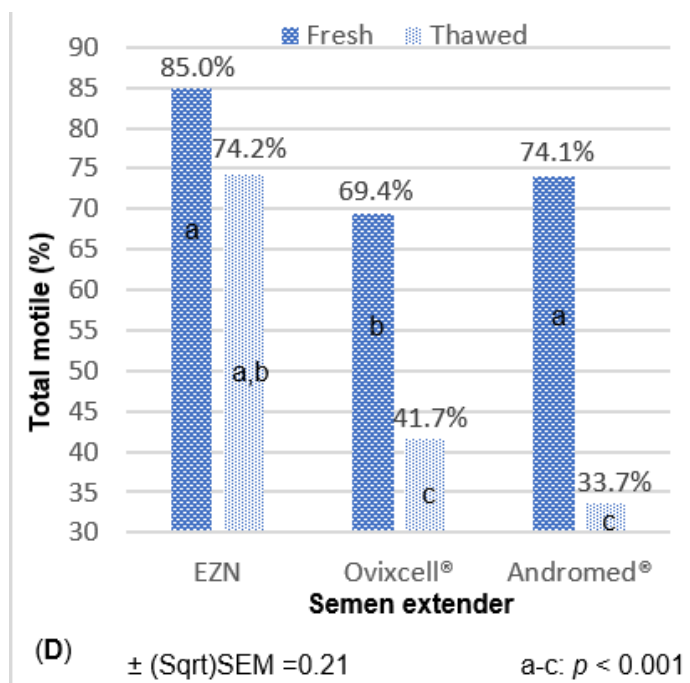
Resultados-SC

- ▶ Todos os parâmetros seminais diminuíram no SC.
- ▶ SC-Diluidor EZN: > % de spz vivos, MI (%)



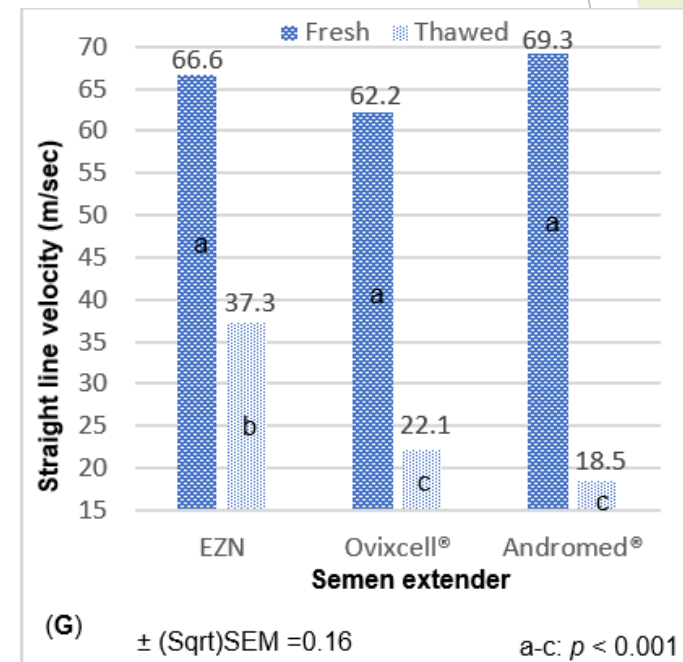
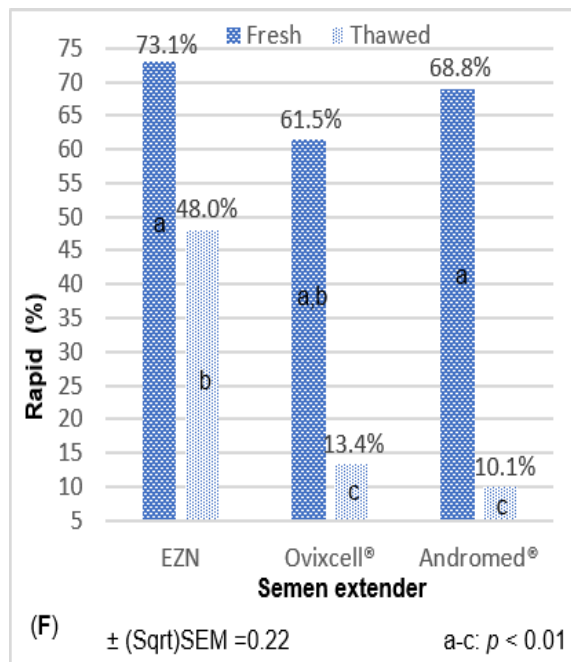
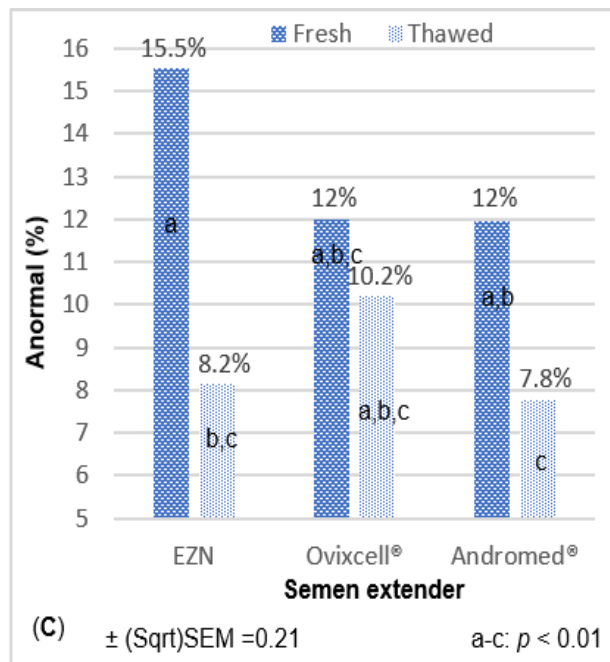
Resultados-SC

- No SC - Diluidor EZN - Valores superiores CASA (MT, TPM, STR, VSL e BCF).



Resultados-SC

- % de SPZ Anormais-Não houve diferenças entre os diluidores.
- Diluidor EZN: > % spz rápidos e STR.



Conclusões

- ▶ A criopreservação do sémen é um dos factores essenciais na preservação da biodiversidade genética (BPGA).
- ▶ No SF não foram observadas diferenças entre diluidores, exceptuando-se a MI (%) que foi superior com os diluidor EZN e Ovixcell.
- ▶ Diminuição de todos os parâmetros seminais no SC vs SF.
- ▶ No SC, com diluidor EZN, maiores resultados na MI (%), % de Spz Vivos e em todos parâmetros avaliados pelo CASA.

Conclusões

- ▶ Estes estudos pretendem contribuir melhorar a congelabilidade do sémen de raças nacionais e aumentar a fertilidade *in vitro* e *in vivo*.
- ▶ Novos estudos serão necessários para melhorar a congelabilidade do sémen das raças nacionais que irão permitir aumentar a sua produtividade, utilizando as biotecnologias reprodutivas e programas de melhoramento genético.