

**CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIFG  
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**THIAGO PEREIRA DA CRUZ**

**REVISÃO DE LITERATURA: ANDROLÓGICO EM EQUINOS E  
CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMÊN EQUINO.**

**GUANAMBI-BA**

**2021**

**THIAGO PEREIRA DA CRUZ**

**REVISÃO DE LITERATURA: ANDROLÓGICO EM EQUINOS E  
CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMÊN EQUINO.**

Revisão de literatura apresentada ao Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário UniFG como requisito avaliativo da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientador: Danillo Veloso Ferreira Murta.

**GUANAMBI – BA**

**2021**

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil possui um dos maiores rebanhos de equinos do mundo tendo a sua maior concentração nos estados de Minas Gerais e Bahia tendo a região Centro-Oeste em crescimento contínuo (AIDAR, 2013). O mercado do cavalo gera em torno de 3,2 milhões de empregos de forma indireta movimentando em torno de 7,5 bilhões de reais por ano na economia nacional (LIMA et al., 2012).

Para que haja um bom produto oriundo de um cruzamento entre animais geneticamente selecionados, é necessário que o reprodutor tenha as características andrológicas necessárias comprovando a sua capacidade reprodutiva e fértil. Para que haja a comprovação da eficácia do sêmen, é necessário realizar o exame andrológico nos animais que serão utilizados logo no início da estação de monta, certificando-se da maturidade sexual e qualidade espermática.

O exame andrológico começa com uma resenha e anamnese do animal avaliando o estado geral da sua saúde, como: estado nutricional, sistema circulatório, locomotor, dentição, olhos e laringe assim como deve ser observado se a genitália externa está compatível ou não com a idade e raça do animal (WHINTER, 2014). Há também a realização da análise do sêmen fresco e diluído coletado com o auxílio de uma vagina artificial. Nesse exame deve ser avaliado a motilidade, vigor espermático, cor, odor, pH e concentração total de espermatozoides no ejaculado (WHINTER, 2014).

Atualmente, existem biotécnicas voltadas para a reprodução animal que ajudam a preservar e manter a qualidade espermática, permitindo a distribuição do material genético do animal requisitado e um maior aproveitamento do potencial reprodutivo de um animal. A criopreservação do sêmen é um método utilizado na reprodução equina que proporciona uma maior disponibilidade de espermatozoide facilitando os trabalhos da reprodução assistida. Outras vantagens são redução dos riscos de contaminação por doenças sexualmente transmissíveis, otimização dos ganhos com potencial genético comprovado, e torna possível o transporte de sêmen para qualquer parte do mundo (BARRETO et al. 2008).

Apesar das vantagens da criopreservação, existem dificuldades que são enfrentadas para que o método seja realizado corretamente e isso influencia diretamente no resultado que se espera obter após a realização do método. As técnicas mais eficientes para a avaliação são as mais onerosas e trabalhosas sendo elas o sistema de avaliação computadorizado das características seminais (CASA), sondas fluorescentes, técnicas de coloração e citometria de fluxo (AIDAR, 2013). A técnica mais comum e mais utilizada é a avaliação da motilidade e concentração espermática, entretanto, esse método é pouco eficaz para determinar defeitos celulares e se há baixa fertilidade do garanhão (ALLEN, 2005).

O objetivo dessa revisão bibliográfica é discorrer sobre como é realizado o exame andrológico e a criopreservação do sêmen equino, relatando como é feita e quais as vantagens e benefícios que essa biotecnologia pode proporcionar, discorrendo sobre os métodos de congelamento e análises que são realizadas no sêmen.

## 1. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 EXAME ANDROLÓGICO

O principal objetivo do exame andrológico é avaliar a eficiência reprodutiva do garanhão assim como averiguar a qualidade espermática e características reprodutivas que comprovam a saúde reprodutiva do animal e deve ser realizado em todos os machos do plantel, incluindo animais jovens (WHINTER, 2014).

Muitas vezes, o exame andrológico só é requisitado quando se nota uma falha reprodutiva do garanhão ou quando há algum problema específico na genitália externa. Entretanto, o ideal seria que fosse realizado a cada início de estação de monta, sendo um exame de caráter preventivo, da mesma maneira que deve ser realizado no ato de compra e venda de garanhões (WHINTER, 2014).

É importante enfatizar que o exame andrológico não consiste apenas na avaliação do trato reprodutor masculino, motilidade espermática ou espermograma, mas sim, um conjunto de exames e avaliações, tendo início durante a resenha e anamnese do animal. O exame andrológico vai além das avaliações, por isso é de extrema importância que o responsável pela realização da técnica tenha amplo conhecimento sobre todo o trato reprodutivo masculino, desde a regulação hormonal, espermatogênese até o momento da cópula (WHINTER, 2014). Deve ser observado durante o exame se a genitália externa possui amadurecimento compatível com a idade do animal. Desta forma, anota-se os valores obtidos de largura e comprimento escrotal.

A fertilização ocorre quando os espermatozoides apresentam características morfológicas adequadas e integras, e para confirmação da qualidade espermática, deve ser feita a avaliação do ejaculado sem o gel, analisando a sua motilidade, vigor espermático, cor, odor, pH e concentração total do ejaculado (MACEDO, 2017; WHINTER, 2014).

Após o ato da coleta de sêmen deve-se separar a fração gel da fração ejaculada rica em espermatozoides, essa separação pode ser feita com o auxílio de um filtro acoplado ao copo coletor do sêmen ou no momento da colheita retendo a fração gel e seus contaminantes (SQUIRES et al., 1999).

A média de ejaculado dos garanhões varia de 25 a 80mL sendo esta fração rica em espermatozoides, sem a fração gel. Esse volume pode variar de acordo a idade do animal, época do ano e frequência de colheita (LOVE, 2007, MCKINNON, 2007).

A motilidade espermática é realizada com o auxílio de um microscópio onde é colocada uma gota do ejaculado entre a lâmina e lamínula onde será analisada através do examinador que irá dar a porcentagem do vigor e motilidade espermática na amostra. É uma técnica bastante utilizada e de grande relevância para detectar um sêmen de boa qualidade (ARRUDA et al. 2011).

Recentemente, criou-se um método mais seguro que avalia a motilidade que é realizado através de um sistema de análise computadorizada da motilidade espermática (Computer Assisted Sperm Analyses - CASA), onde os resultados são mais precisos e confiáveis (AMANN; KATZ, 2004).

Existe um teste que é capaz de identificar as células espermáticas lesadas sendo um deles o teste de integridade de membrana plasmática com eosina e nigrosina. Para a realização do teste são utilizados dois corantes: eosina e nigrosina. A eosina é capaz de penetrar em células que não estão lesadas, porém em células danificadas, as mesmas ficam coradas de rosa. A nigrosina permite a coloração do fundo da lâmina, facilitando a visualização dos espermatozoides que não foram corados, ou seja, que não foram lesionados (BRITO, 2007).

## **2.2 CRIOPRESERVAÇÃO**

A criopreservação do sêmen equino se trata de um método responsável pelo melhoramento genético da espécie e otimização do uso de bons reprodutores, porém, os índices de fertilidade com sêmen equino estão abaixo quando comparados com a criopreservação do sêmen bovino (FÜRST et al, 2005).

Devido os procedimentos realizados durante a criopreservação como o congelamento e descongelamento do sêmen pode levar a danos na membrana celular d espermatozoides alterando e impedindo o mesmo exercer a sua função e dessa forma, reduz os índices de fertilidade devido as alterações sofridas (PARKS & GRAHAM, 1992).

Para manter a integridade da membrana plasmática é necessário que o processo de resfriamento seja feito de maneira correta respeitando a curva de resfriamento prevenindo que não ocorra choque térmico, se caso isso acontecer devido a realização do método de forma incorreta, causará danos irreversíveis ao espermatozoide. Os principais danos são lesões no acrossoma, perda de motilidade, queda na atividade metabólica e perda de alguns componentes intracelulares. Essas alterações são sofridas durante a mudança de fase do espermatozoide, do estado líquido cristalino para o estado gel e durante a refrigeração (GRAHAM, 1996).

Para que o método seja realizado de maneira correta, é necessário que antes do sêmen passar pelo processo de congelamento ele seja armazenado em temperatura ambiente ( $37^{\circ}$  a  $20^{\circ}$ ) sem causar danos ao espermatozoide. Antes disto, é importante que o sêmen seja diluído em um meio adequado. Os diluentes proporcionam a manutenção da integridade celular, proteção contra o choque térmico, equilíbrio do pH, inibição de crescimento bacteriano e fonte de energia (FÜRST, 2006; LORENZONI, 2010).

As curvas de resfriamento são importantes para que não haja a formação de cristais de gelo, pois quando isso ocorre, acaba danificando a integridade da membrana celular causando efeitos deletérios para o espermatozoide e interferindo em um bom resultado reprodutivo após o uso desse sêmen congelado (SQUIRES et al., 1999).

O processo de congelamento deve ocorrer de forma lenta, proporcionando que a água extracelular congele e conseqüentemente a concentração de soluto extracelular colocando a célula em um meio hipertônico permitindo a perda de água e desidratação celular. Caso ocorra de forma rápida, não se dá a perda de água promovendo assim a formação de cristais de gelo intracelularmente (MAZUR, 1985).

Sob a temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$  a água não congela, apenas é super refrigerada. Porém quando atinge temperaturas entre  $-5^{\circ}\text{C}$  a  $-10^{\circ}\text{C}$  começa a formação de cristais e durante essa fase a curva de resfriamento deve ser lenta para evitar que a água intracelular congele e rápida o suficiente para que a célula desidratada não entre em contato com o meio hiperosmótico. A perda rápida de

água causa encolhimento celular severo que acaba causando um colapso na membrana plasmática (MEDEIROS, 2002).

O descongelamento deve ser realizado de forma rápida para que não ocorra a recristalização e conseqüentemente a lesão celular. Da mesma forma, um congelamento lento requer um descongelamento lento pois a desidratação celular é maior e necessita de um maior tempo de re-hidratação espermática (MAZUR, 1985).

### **3.0 CONCLUSÃO**

Para que haja um bom desenvolvimento reprodutivo, é necessário que haja a realização do exame andrológico em todos os animais do plantel antes do início da estação de monta para que possa garantir a eficiência reprodutiva do garanhão escolhido.

Existem métodos que são de extrema importância para garantir o potencial espermático e estes auxiliam na decisão do sêmen de melhor qualidade. O sêmen de boa qualidade deve apresentar vigor espermático, motilidade espermática, cor, odor e pH adequados pois desta forma garante uma boa fecundação.

A criopreservação do sêmen equino é um método recente e que há ainda muito o que se desenvolver, entretanto, é um método que vem se destacando muito e aperfeiçoamento e tecnificação de pessoas qualificadas para realizar o método que apresenta bons índices com resultados positivos.

#### 4.0 REFERÊNCIAS

- AIDAR, N. B., **Criopreservação de sêmen equino**. Brasília-DF, Universidade de Brasília. 51p.: il. Monografia – Universidade de Brasília – UnB/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2013.
- ALLEN, W. R. The development and application of the modern reproductive Technologies to horse breeding. *Reproduction in Domestic Animal*, v.40, p.310329, 2005.
- AMANN, R. P.; KATZ, D. F. Reflections on CASA after 25 years. *Journal of Andrology*, v.25, p.317-325, 2004.
- ARRUDA, R.P.; CELEGHINI, E. C. C.; ALONSO, M. A.; CARVALHO, H. F.; OLIVEIRA, L. Z.; NASCIMENTO, J. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.145-151, abr./jun. 2011. Disponível em [www.cbpa.org.br](http://www.cbpa.org.br).
- BARRETO, M. A. P.; SILVA, J. F. S.; FAGUNDES, B.; CAIADO, J. R. C.; SOUZA, G. V.; SHIMOYA, A.. Efeito de proteínas do plasma seminal equino com massa superior a 10 kDa concentradas 10 vezes sobre a congelabilidade do sêmen. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n. 12, p. 2115-2119, 2008.
- FÜRST, R.; CARVALHO, G. R.; FÜRST, M. C. O.; RUAS, J. R. M.; BORGES, A. M.; MAFILLI, V. Efeito do resfriamento do sêmen equino sobre sua congelabilidade. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, v57, n.5, p. 599-607, 2005.
- FÜRST, R.; Efeito de diferentes tempos de equilíbrio, taxas de congelamento e concentrações espermáticas na fertilidade do sêmen equino. 2006. 96f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.
- GRAHAM J. Assessment of sperm quality. In: *International Symposium on Stallion Reproduction*, 3, 2001, Fort Collins. *Proceedings...* Fort Collins: ISSR, 2001. p.23. Resumo.
- LIMA, R. A. S.; OLIVEIRA, R. A. MENDES, C. Q.; JÚNIOR, P. G. Perfil e Tendências da Equideocultura Brasileira. *Anais da 49ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. A produção animal no mundo em transformação*. Brasília, 23 a 26 de julho de 2012.
- LORENZONI, S. R. G.; *Criopreservação de sêmen equino emvasado em criotubo*. 2010. 65f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2010.
- LOVE, C. C. Reproductive examination of the stallion: evaluation of potential breeding soundness. In: YOUNGQUIST, R. S.; THARELFALL, W. R. *Current therapy in large animal. Theriogenology*. 2nd. ed. Saint Louis: Elsevier-Saunders, 2007. p. 10-14.
- MACÊDO, I. N.; *AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA E ULTRASSONOGRRAFIA DOPPLER EM GARANHÕES QUARTO DE MILHA*. Universidade Federal da Paraíba, julho de 2017.

MAZUR, P. Basic concepts in freezing cell. In: Deep freezing of boar semen, 1985, Uppsala. Proceedings. Uppsala, 1985, p.199- 222.

MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. Equine Reproduction. Anatomy, Physiology and Endocrinology. Ed. Lea e Febiger. Cap. 76, p. 645-658, 1993.

PARKS, J.E.; GRAHAM, J.K. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. Theriogenology, v.38, p.209-222, 1992.

SQUIRES, E.L.; PICKETT, B.W.; GRAHAM, J.K.; VANDERWALL, D.K.; McCUE, P. M.; BRUEMMER, J. E. Cooled and frozen stallion semen. Colorado State university: College of veterinary medicine and biomedical Sciences, p11- 21, 1998.

Winter, G. H. Z., **Exame andrológico em garanhões**. Nucleus Animalium, v.6, n.1, 2014, Porto Alegre, RS.