

Avaliação de machos suínos: sensibilidade ao resfriamento e capacidade de ligação espermática a um substrato sintético *

GORETI RANINCHESKI DOS REIS

Ivo Wentz (Orientador - UFRGS)

Mari Lourdes Bernardi (Co-orientadora - UFRGS)

Fernando Pandolfo Bortolozzo (Co-orientador - UFRGS)

Banca: Fabiane Mendonça Ferreira (UNICRUZ), Ilmo Wentz (UFSM), Rui Fernando Félix Lopes (UFRGS)

O presente trabalho constou de três estudos. No primeiro estudo, cinco ejaculados de 30 machos foram analisados conforme a manutenção da MOT a 17°C, sendo classificados em três tipos: MOT <60% nas 72h (EI); MOT ≥60% nas 72h e <60% nas 144h (EII) e MOT ≥60% nas 144h (EIII). Doze machos foram selecionados e distribuídos em três grupos: MAIOR, MÉDIA e MENOR sensibilidade espermática ao resfriamento. Em seguida, foram coletados cinco ejaculados de cada macho, sendo a MOT avaliada a cada 24h, e a integridade da membrana espermática (IM) e de acrossomas normais (NAR) nas 24, 72, 120 e 168h. Machos menos sensíveis ao resfriamento apresentaram menor variação na MOT do período pré- para o pós-seleção. Diferenças entre os machos foram observadas desde as 24 até 168h para MOT, nas 120 e 168h para MI e nas 72 e 168h para NAR. A MOT foi mais afetada que MI e NAR durante o armazenamento do sêmen *in vitro*. No estudo 2 foi avaliada a possibilidade de reverter a sensibilidade espermática ao resfriamento pela troca de plasma seminal (PS) entre machos com diferente manutenção da MOT a 17°C. Foram utilizados ejaculados de cinco cachos selecionados e classificados como: menor (MES) e maior sensibilidade ao resfriamento (MAS). Foram utilizados seis tratamentos, com cinco repetições cada. Nos tratamentos T1 e T3, o sêmen dos machos MES e MAS, respectivamente, foram processados de acordo com o protocolo convencional. Foi efetuada centrifugação (800 g por 10 min) e adição do PS (10mL) homólogo para os espermatozoides MES e MAS, respectivamente, nos T2 e T4. Após a centrifugação, foi realizada a troca do PS, sendo que espermatozoides dos machos MES foram expostos ao PS dos machos MAS (T5) e o PS dos machos MES foi adicionado aos espermatozoides dos machos MAS (T6). A MOT foi avaliada a cada 24h, durante sete dias de conservação. NAR e de IM foram avaliados nas 24, 72, 120 e 168h. Diferenças na MOT, entre os machos MES (T1) e MAS (T3), foram observadas após armazenamento de 48h. Não foram observadas alterações em MOT e IM, quando foi efetuada a troca de PS entre os machos MES e MAS. Não foi possível reverter a maior sensibilidade ao resfriamento de espermatozoides suínos, após a ejaculação, com a adição de 10% do PS de machos com sêmen de menor sensibilidade. No terceiro estudo, foi avaliada a fertilidade de sêmen suíno pelo teste de ligação de espermatozoides a um substrato sintético. A MOT e o percentual de espermatozoides ligados (PEL) foram avaliados nas 5, 24, 48 e 72 horas de armazenamento a 17°C. O PEL foi determinado em soluções contendo 6,25 ou 12,5 milhões de espermatozoides/mL, com ou sem albumina sérica bovina (BSA), preparadas a partir de dois a cinco ejaculados de cada um dos quatro machos. Houve correlação positiva ($r=0,33$) entre a MOT e o PEL. Os machos diferem quanto à capacidade de ligação de seus espermatozoides ao substrato sintético, a partir de 24 horas de armazenamento do sêmen. Maior percentual de espermatozoides ligados ao substrato sintético é verificado com a inclusão de BSA e com o aumento da concentração espermática.

Descritores: espermatozoide, ligação espermatozoide-oócito, motilidade, plasma seminal, resfriamento, sêmen, suíno.

Apresentada: 26 março 2002

*Tese de Doutorado n.11 (Especialidade: Fisiopatologia da Reprodução). 91f. Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias [www.ufrgs.br/ppgcv], Faculdade de Veterinária - UFRGS, Porto Alegre/RS. CORRESPONDÊNCIA: G.R. Reis [grreis@hotmail.com].

Evaluation of boars: chilling sensitivity and sperm binding ability to a synthetic substrate**

GORETI RANINCHESKI DOS REIS

Ivo Wentz (Adviser - UFRGS)

Mari Lourdes Bernardi (Co-Adviser - UFRGS)

Fernando Pandolfo Bortolozzo (Co-Adviser - UFRGS)

Committee: Fabiane Mendonça Ferreira (UNICRUZ), Ilmo Wentz (UFSM), Rui Fernando Félix Lopes (UFRGS).

This thesis was composed by three studies. In the first study was evaluated if twelve boars selected according to the maintenance of sperm motility (MOT), at 17°C, showed the same pattern on subsequent collections and to evaluate the behaviour of normal acrosomes (NAR) and plasma membrane integrity (MI) during storage. Five ejaculates from 30 boars were evaluated according to the time of maintenance of MOT at 17°C, and they were classified in three types: MOT <60% at 72h (EI); MOT ≥60% at 72h and <60% at 144h (EII) and MOT ≥60% at 144h (EIII). Twelve boars were selected and classified, in three groups: HIGH, INTERMEDIATE and LOW chilling sensitivity. After this, five ejaculates from each boar were collected and MOT was evaluated each 24h, the plasma membrane integrity (MI) and the normal acrosomes (NAR) at 24, 72, 120 and 168h of storage. Males less sensitive to cooling showed a lower variation of MOT, between pre- and post-selection periods. Differences among males for MOT were observed from 24 up to 168h, at 120 and 168h for MI and at 72 and 168h for NAR. MOT was more affected than MI and NAR during in vitro storage of swine semen. In the second study was evaluated the possibility of reverting the chilling sensitivity by the exchange of seminal plasma between boars with different maintenance of motility (MOT) at 17°C. Five boars were selected and classified in: low (MES) and high (MAS) chilling sensitivity. Six treatments, with five replications each one, were utilized. In T1 and T3, semen from boars MES and MAS, respectively, were processed according to the conventional protocol. Centrifugation (800 g for 10 min) was performed and homologous PS (10mL) was added to sperm MES and MAS, respectively, in T2 and T4. After centrifugation, sperm from boars MES was exposed to PS from boars MAS (T5) and the PS of boars MES was added to sperm of boars MAS (T6). Sperm motility was evaluated each 24h during seven days of conservation. NAR and IM were evaluated at 24, 72, 120 and 168h. Differences in MOT, between boars MES (T1) and MAS (T3), were observed after 48h of storage. No alterations in MOT and IM were observed when PS was changed between MES and MAS boars. It was not possible to reverse the higher chilling sensitivity of ejaculated swine sperm, with the addition of seminal plasma of more resistant boars. In the third study, it was evaluated the boar semen fertility by a sperm-binding assay to a synthetic substrate. Motility (MOT) and percentage of bound sperm (PSB) were evaluated at 5, 24, 48 and 72 hours of storage at 17°C. PSB was analyzed in solutions containing 6.25 or 12.5 million of spermatozoa/mL, with or without bovine serum albumin (BSA), processed from two to five ejaculates of four boars. There was a positive correlation ($r=0.33$) between MOT and PSB. After 24 hours of sperm storage, boars differ in their sperm binding to the synthetic substrate. Binding of swine spermatozoa to the synthetic substrate is higher in the presence of BSA and with the increase of spermatoc concentration.

Key words: chilling, motility, semen, seminal plasma, spermatozoa, sperm-egg binding, swine.

Presented: 26 March 2002

**Doctoral Dissertation #11 (Field: Theriogenology). 91p. Graduate Program in Veterinary Sciences [www.ufrgs.br/ppgcv], Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre/Brazil. CORRESPONDENCE: G.R. Reis [grrreis@hotmail.com].