

Influência da contaminação bacteriana no sêmen criopreservado de touros sob as características espermáticas

Lilian Scalon Zancheta¹, Rubens Paes de Arruda², Adolfo Firmo Ferreira³, Ricardo Araújo Micai³, Ana Clara Faquineli Cavalcante³, Lara Pieshko¹, Renata Lançoni^{1*}

¹Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil

²Laboratório de Biotecnologia do Sêmen e Andrologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, Brasil

³Pecplan ABS Importação e Exportação LTDA., Delta, MG, Brasil

*E-mail: renata.lanconi@ufu.br

O uso do sêmen bovino criopreservado para inseminações artificiais é uma prática amplamente difundida na reprodução desta espécie atualmente. Assim, é de extrema importância analisar a qualidade seminal para garantir uma boa taxa de fertilidade. Porém a presença de bactérias no sêmen usado pode levar a perda de integridade de membranas espermáticas e maior produção de espécies reativas de oxigênio, o que pode inviabilizar seu uso para inseminação. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar a influência da contaminação bacteriana no sêmen criopreservado de bovinos sob a motilidade pós descongelamento, integridade de membranas plasmática e acrossomal e potencial de membrana mitocondrial. Para isso, foram utilizadas 6 (seis) partidas de sêmen, sendo 3 (três) com média de 26,33 unidades formadoras de colônias (UFC) e 3 (três) sem unidades formadoras de colônias (UFC), ambas coletadas do mesmo touro para maior controle de variáveis indesejadas. A motilidade foi avaliada pelo sistema de análise computadorizada da motilidade (CASA) e as integridades de membranas foram avaliadas por meio das sondas Iodeto de Propídio, Hoechst 33342, FITC-PSA e JC-1 sob microscopia de epifluorescência e classificadas quanto às porcentagens de células com todas as membranas íntegras (PIAIA – membrana plasmática íntegra, acrossomo íntegro e alto potencial de membrana mitocondrial), porcentagens de células com membrana plasmática íntegra (MPI), acrossomo íntegro (AI) e alto potencial de membrana mitocondrial (APMM). Os dados foram avaliados comparativamente pelo teste T entre os grupos com UFC e sem UFC considerando $P \leq 0,05$ como diferença significativa, sendo apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os grupos. A motilidade foi de 51,93% ($\pm 3,23$) no grupo com UFC e de 54,63% ($\pm 5,35$) no grupo sem UFC. Já a concentração foi de $9,76 \times 10^9$ de espermatozoides/mL ($\pm 0,91$) no grupo com UFC e de $10,80 \times 10^9$ espermatozoides/mL ($\pm 1,05$) no grupo sem UFC. A porcentagem de células com todas as membranas íntegras foi de 45,00% ($\pm 3,90$) no grupo com UFC e de 38,33% ($\pm 3,19$) no grupo sem UFC. Sendo a porcentagem de células apenas com a membrana plasmática íntegra de 45,00% ($\pm 3,90\%$) no grupo com UFC e de 38,33% ($\pm 3,19$) no grupo sem UFC. Em relação a porcentagem de células com a membrana acrossomal íntegra, no grupo com UFC foi de 77,83% ($\pm 3,63\%$) e no grupo sem UFC foi 76,33% ($\pm 1,20\%$). A porcentagem de células com alto potencial de membrana mitocondrial foi de 45,33% ($\pm 3,63$) no grupo com UFC e 38,50% ($\pm 3,32$) no grupo sem UFC. Por fim, pode-se concluir que não foram observados efeitos deletérios da contaminação bacteriana no sêmen, nas variáveis observadas dessas partidas analisadas, porém pretende-se realizar teste de fertilidade com essas amostras para observar se existe efeito da contaminação na taxa de prenhez.

Palavras-chave: sêmen; bovino; criopreservado; integridade de membranas; motilidade.

Influence of bacterial contamination on cryopreserved semen of bulls on sperm characteristics

Lilian Scalon Zancheta¹, Rubens Paes de Arruda², Adolfo Firmo Ferreira³, Ricardo Araújo Micai³, Ana Clara Faquineli Cavalcante³, Lara Pieshko¹, Renata Lançoni^{1*}

¹Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil

²Laboratório de Biotecnologia do Sêmen e Andrologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, Brasil

³Pecplan ABS Importação e Exportação LTDA., Delta, MG, Brasil

*E-mail: renata.lanconi@ufu.br

The use of cryopreserved bovine semen for artificial inseminations is a widespread practice in the reproduction of this species. Thus, is important to analyze the seminal quality to ensure good fertility rates. However, the presence of bacteria in the semen can lead to integrity loss of sperm membranes and increased production of reactive oxygen species, which can make unviable its use for insemination. Therefore, the objective of this study was to analyze the influence of bacterial contamination on the post-thaw motility, plasma and acrosomal membrane integrity and mitochondrial membrane potential of cryopreserved semen of cattle. For this, 6 (six) semen batches were used, 3 (three) with 26.33 colony-forming units (CFU) and 3 (three) without colony-forming units (CFU), both collected from the same bull for greater control of undesirable variables. Motility was evaluated by the Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) and membranes integrity was evaluated using the Propidium Iodide, Hoechst 33342, FITC-PSA and JC-1 probes under epifluorescence microscopy and classified according to the percentage of cells with all membranes intact (IPMIAH - intact plasma membrane, intact acrosome and high mitochondrial membrane potential), the percentage of cells with intact plasma membrane (IPM), intact acrosome (IA) and high mitochondrial membrane potential (HMMP). The data was statistically evaluated by the T-test between the groups with and without CFU, considering $P \leq 0.05$ as a significant difference, being presented as mean standard error (MSE). No significant statistical differences were found between the groups. Motility was 51,93% ($\pm 3,23$) in the CFU group and 54,63% ($\pm 5,35$) in the non-CFU group. The concentration was $9,76 \times 10^9$ sperm/mL ($\pm 0,91$) in the CFU group and $10,80 \times 10^9$ sperm/mL ($\pm 1,05$) in the group without CFU. The percentage of cells with all membranes intact was 45,00% ($\pm 3,90$) in the CFU group and 38,33% ($\pm 3,19$) in the non-CFU group. The percentage of cells with only intact plasma membrane was 45,00% ($\pm 3,90\%$) in the group with CFU and 38,33% ($\pm 3,19$) in the group without CFU. Regarding the percentage of cells with intact acrosomal membrane in the group with CFU was 77.83% ($\pm 3.63\%$) and in the group without CFU was 76.33% ($\pm 1.20\%$). The percentage of cells with high mitochondrial membrane potential was 45,33% ($\pm 3,63$) in the CFU group and 38,50% ($\pm 3,32$) in the non-CFU group. Finally, it can be concluded that no deleterious effects of bacterial contamination in semen were observed in the variables observed in the matches analyzed, but we intend to carry out fertility tests with these samples to see if there is an effect of contamination on the pregnancy rate.

Keywords: semen; cattle; cryopreserved; membrane integrity; motility.