



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
REITORIA
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

1. Identificação do autor

Nome completo: Eliana Torres do Nascimento _____

CPF: 04950827162 _____ RG: 8829693 _____ Telefone: (93) 99175-4027 _____

E-mail: Eliana Torres do Nascimento _____

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página de rosto?

(X) Sim () Não

2. Identificação da obra

() Monografia (X) TCC () Dissertação () Tese () Artigo científico () Outros: _____

Título da obra: Avaliação da qualidade espermática de bovino após descongelamento _____

Programa/Curso de pós-graduação: Bacharelado em Zootecnia _____

Data da conclusão: 20/01/2023__.

Agência de fomento (quando houver): _____

Orientador: Profa. Dra. Aline Pacheco _____

E-mail: alinepacheco@outlook.com _____

Co-orientador: _____

Examinadores: Kedson Alessandri Lobo Neves _____

3. Informação de disponibilização do documento:

O documento está sujeito a patentes? (X) Sim () Não

Restrição para publicação: () Total () Parcial (X) Sem restrição

Justificativa de restrição total*: _____

4. Termo de autorização

Autorizo a Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) a incluir o documento de minha autoria, acima identificado, em acesso aberto, no Portal da instituição, no Repositório Institucional da Ufopa, bem como em outros sistemas de disseminação da informação e do conhecimento, permitindo a utilização, direta ou indireta, e a sua reprodução integral ou parcial, desde que citado o autor original, nos termos do artigo 29 da Lei nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, e da lei 12.527 de novembro de 2011, que trata da Lei de Acesso à Informação. Essa autorização é uma licença não exclusiva, concedida à Ufopa a título gratuito, por prazo indeterminado, válida para a obra em seu formato original.

Declaro possuir a titularidade dos direitos autorais sobre a obra e assumo total responsabilidade civil e penal quanto ao conteúdo, citações, referências e outros elementos que fazem parte da obra. Estou ciente de que todos os que de alguma forma colaboram com a elaboração das partes ou da obra como um todo tiveram seus nomes devidamente citados e/ou referenciados, e que não há nenhum impedimento, restrição ou limitação para a plena validade, vigência e eficácia da autorização concedida.

Santarém, 23/01/2023

Assinatura do autor

5. Tramitação no curso

Secretaria / Coordenação de curso

Recebido em ____/____/____. Responsável: _____

Siape/Carimbo



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
IBEF - INSTITUTO DE BIODIVERSIDADE E LORESTAS

ELIANA TORRES DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE ESPERMÁTICA DE BOVINO APÓS
DESCONGELAMENTO**

SANTARÉM-PA

2023

ELIANA TORRES DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE ESPERMÁTICA DE BOVINO APÓS
DESCONGELAMENTO**

Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia: Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas. Orientadora: Prof. Dra. Aline Pacheco

SANTARÉM

2023

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

- N244a Nascimento, Eliana Torres do
Avaliação da qualidade espermática de bovino após descongelamento./ Eliana Torres do Nascimento. – Santarém, 2022.
17 p. : il.
Inclui bibliografias.
- Orientadora: Aline Pacheco.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas, Bacharelado em Zootecnia.
1. Bovino. 2. Fertilidade. 3. Reprodução. I. Pacheco, Aline, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 571.864

ELIANA TORRES DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE ESPERMÁTICA DE BOVINO APÓS
DESCONGELAMENTO**

Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia; Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas.

Orientadora: Profa. Dra. Aline Pacheco

Coorientador:

Conceito: 8,75

Data de Aprovação: 20/01/2023



Profa. Dra. Aline Pacheco

Universidade Federal do Oeste do Pará – IBEF



Prof. Dr. Kedson Alessandri Lobo Neves

Universidade Federal do Oeste do Pará - IBEF



Documento assinado digitalmente

JUCELANE SALVINO DE LIMA

Data: 01/02/2023 15:38:10-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa. Dra. Jucelane Salvino de Lima

Universidade Federal do Oeste do Pará - IBEF

A Deus pela esperança e aos meus familiares por sempre me incentivarem a não desistir dos meus sonhos, em especial pai e mãe.

AGRADECIMENTO

Ao laboratório de Biotecnologia Animal da Universidade Federal do Oeste do Pará que proporcionou todos os materiais e equipamentos possíveis para a realização da pesquisa. Agradeço também a minha orientadora Prof. Dra. Aline Pacheco que atuou de forma incomparável ao ensinar as técnicas e procedimentos de laboratório, além de orientar de forma paciente e didática. Ao Prof. Dr. Kedson Neves, deixo minha gratidão por estar sempre disponível por tirar dúvidas sobre as amostras do experimento.

“A verdadeira ciência ensina sobretudo a duvidar e a ser ignorante”.

Miguel Unamuno

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade do sêmen descongelado utilizando diferentes técnicas. Foram avaliados cinco touros diferentes, quatro da raça Nelore e um da raça Charolês. O teste de termorresistência Lento (TTRL) consistiu em avaliar motilidade no tempo 0, 60, 120, 180 e 240 min sob temperatura de 38°C e o teste de termorresistência rápido (TTRr) avaliou os mesmos aspectos a uma temperatura de 45°C no tempo 0, 15 e 30 min. Patologia e morfologia espermática determinou a viabilidade do sêmen pós descongelamento e o teste hiposmótico (THO), a capacidade de equilíbrio osmótico das células. Houve maior quantidade de espermatozoides com caudas dobradas e decapitados, mas mantiveram-se dentro do padrão de qualidade morfológico, assim como o vigor e a motilidade logo após descongelamento. THO revelou grande variabilidade de células com potencial de regulação hiposmótico, mas todas as amostras estiveram dentro do padrão aceitável (até 30%). Não houve diferença estatística nas médias encontradas no TTRr comparando MOT e vigor entre as amostras, mas houve diferença estatística entre as médias de cada tempo utilizado. A diferença em relação ao tempo no TTRL encontrado na foi mais significativa que no TTRr, além de haver diferença entre os resultados ao comparar o vigor entre as amostras no TTRL. A análise de patologia do sêmen juntamente com THO são eficazes para avaliar a condição da célula e que TTRr é o teste de eleição por causar menos danos e utilizar menos tempo.

Palavras-chave: Bovino. Fertilidade. Reprodução. Termorresistência

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the quality of thawed semen using different techniques. Five different bulls were evaluated, 4 Nellore and 1 Charolais. The Slow thermoresistance test (TTRL) consisted of evaluating motility at time 0, 60, 120, 180 and 240 min at a temperature of 38°C and the fast thermoresistance test (rTTR) evaluated the same aspects at a temperature of 45°C at time 0, 15 and 30 min. Sperm morphology verified the viability of the semen after thawing and the hypoosmotic test (THO), the osmotic balance capacity of the cells. There was a greater amount of spermatozoa with bent tails and decapitated, but they remained within the morphological quality standard, as well as vigor and motility in T0. THO revealed a great variability of cells with hyposmotic regulation potential, but all samples were within the acceptable standard. There was no statistical difference in the means found in the TTRr comparing MOT and vigor between the samples, but there was a statistical difference between the means of each time used. The difference in relation to time in the TTRL found in was more significant than in the TTRr, in addition to there being a difference between the results when comparing the vigor between the samples in the TTRL. Therefore, it is concluded that semen pathology analysis together with THO are effective to assess the condition of the cell and that rTTR is the test of choice because it causes less damage and uses less time.

Keywords: Reproduction. Bovine. Fertility. Thermoresistance.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Motilidade, vigor e defeitos espermáticos, de sêmen bovino, pós descongelamento.....	18
Tabela 2 – Resultado de teste hiposmótico (THO) realizado em sêmen bovino descongelado.....	19
Tabela 3 – Média e respectivos desvios padrão para motilidade e vigor do sêmen bovino, em relação a amostra de sêmen utilizada, durante teste de termo resistência lento (TTRL)	19
Tabela 4 – Médias e respectivos desvios padrão para motilidade e vigor do sêmen bovino, em relação ao tempo de avaliação, durante teste de termorresistência lento (TTRL).....	20
Tabela 5 – Médias e respectivos desvios padrão para motilidade (MOT) e vigor espermático bovino de acordo com cada amostra durante teste de termorresistência rápido.....	20
Tabela 6 – Médias e respectivos desvios padrão para motilidade e vigor espermático de sêmen bovino em função do tempo no teste de termorresistência rápido (TTRr).....	20

LISTA DE SIGLAS

IBEF – Instituto de Biodiversidade e Florestas

IA – Inseminação Artificial

IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo

CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento

LISTA DE ABREVIATURA

TTRL – Teste de Termorresistência Lento

TTRr - Teste de Termorresistência Rápido

THO - Teste hiposmótico

T0 - Tempo zero

μL - microlitros

mOsm/L- miliosmol

°C - graus celsius

% - Porcentagem

MOT - Motilidade

DMe - Defeitos menores

DMa - Defeitos maiores

DT - Defeitos totais

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4. CONCLUSÃO.....	21
REFERÊNCIAS.....	21
ANEXOS.....	24

1 INTRODUÇÃO

Devido ao aumento da população mundial, a demanda por alimentos tem crescido significativamente. A proteína animal é fundamental na alimentação humana por possuir alto valor biológico e servir como fonte completa de aminoácidos essenciais, sendo um nutriente determinante no funcionamento do metabolismo (GOLMIA, 2010). Devido a retomada da comercialização com grandes expoentes da economia como a China e o crescimento da economia Norte Americana, o Brasil aumentou significativamente a exportação de carne bovina para esses países no ano de 2022, principalmente após retomar o alto padrão de carne comprovada e certificada após controle da Encefalopatia Espongiforme Bovina (CORSINI 2022).

Diante desse cenário, médio e grandes produtores rurais tem aumentado o número de seus rebanhos e aderido à tecnologias da reprodução que tem como objetivo aumentar a eficiência reprodutiva e por consequência diminuir os prejuízos a campo (NOGUEIRA et al. 2013).

A inseminação artificial (IA) e a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem sido uma das principais biotécnicas reprodutivas utilizadas para reduzir o intervalo entre partos, proporcionar melhoramento genético do rebanho, aumentar a taxa de concepção e de gestação (SILVA et al. 2021). No entanto, para que se obtenham bons índices reprodutivos é necessário que haja uma boa qualidade do sêmen a ser utilizado, visto que patologias espermáticas afetam negativamente o potencial de fertilidade, o que é atribuído a falhas estruturais e funcionais dos espermatozoides (SILVA et al. 2021).

Além disso, outros aspectos que influenciam na qualidade é o protocolo de descongelamento de sêmen, pois dependendo da temperatura e o tempo empregado, parâmetros como o vigor e a motilidade podem ser prejudicados. O teste de termorresistência lento (TTRL) e rápido (TTRr) tem sido utilizado como forma de avaliar a resistência dos espermatozoides, em banho-maria, após o descongelamento, simulando as condições do trato genital da fêmea no decorrer de algumas horas (CUNHA et al. 2012).

Associado ao TTRL e TTRr, o teste hiposmótico (THO) avalia a integridade da membrana plasmática após submeter espermatozoides em meio hipotônico, fazendo com que o conteúdo intracelular seja preenchido com maior passagem de água, sendo visível principalmente na estrutura caudal. A visualização dessa alteração morfológica ocasionada pelo desequilíbrio osmótico prediz as chances de fecundação do oócito, indicando maior grau de funcionalidade do espermatozoide (PRIEN & LACOVIDES 2016).

A avaliação de motilidade retilínea tem sido utilizada juntamente com a avaliação de vigor para determinar a viabilidade espermática e é definida como a capacidade do espermatozoide nadar de um ponto a outro no trato reprodutivo feminino em busca do óvulo a ser fecundado (SIQUEIRA et al. 2007).

Vigor espermático é uma análise física que determina a qualidade dos movimentos realizados pelo espermatozoide durante o processo de fecundação e é classificada de acordo com uma escala de 0 a 5 (PLATZ & SEAGER 2005).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade do sêmen descongelado por meio do teste de termorresistência, teste de hiposmolaridade, patologia e morfologia espermáticas.

2 MATERIAIS E METODOS

O experimento foi realizado em novembro de 2022 no laboratório de Biotecnologia Animal, da Universidade Federal do Oeste do Pará, campus Tapajós, localizada em Santarém, Pará.

Amostras de sêmen congelado, mantidos em botijão de nitrogênio líquido, foram utilizados para realizar três tipos de testes: teste de termoresistência lenta (TTRL), teste de termoresistência rápida (TTRr) e teste hiposmótico (THO). Foram avaliados cinco touros diferentes, sendo utilizado duas palhetas de cada. Dos cinco touros quatro eram zebus da raça Nelore e um taurino da raça Charolês.

Cada palheta de sêmen foi retirada do botijão de nitrogênio líquido e descongelada em um descongelador de sêmen Fertilize Trivolt com temperatura a 37 °C durante 30 segundos e em seguida o sêmen contido na palheta foi transferido para um tubo tipo Falcon de 15 ml.

Imediatamente após o descongelamento uma alíquota do sêmen foi colocada sobre lâmina e lamínula para análise da motilidade e do vigor após descongelamento, em microscópio óptico de campo claro com aumento de 100X. Uma alíquota de 20 µL de cada palheta de sêmen foi transferida para uma solução de formol salina tamponado com objetivo de posterior análise da morfologia espermática, que foi realizada através da técnica de preparação úmida, sendo contadas 100 células e os defeitos espermáticos classificados em maiores e menores (BLOM 1973).

Para o teste hiposmótico uma amostra de 30 µL de sêmen descongelado foi adicionada à uma solução de 300 µL de citrato trisódico com frutose na concentração de 100 mOsm/L. Em

seguida a solução foi incubada por 60 minutos em banho-maria a 38°C. Após esse período, as amostras foram fixadas em 0,5mL de solução formol-salino tamponado, para leitura de caudas dobradas em microscopia de campo claro (BRITO et al. 2003).

O resultado do THO consiste em subtrair o total de espermatozoides com caudas dobradas após o THO pelo total de alterações na região da cauda dos espermatozoides antes do THO (contagem realizada na avaliação morfológica), de acordo com a metodologia de MELO et al. (2005).

Para realizar o TTRl o sêmen descongelado foi mantido em banho-maria digital da novatécnica modelo NT245 a 38°C por quatro horas. Amostras de cada sêmen eram avaliadas a cada hora (TTRl60, TTRl120, TTRl180 e TTRl300).

Para a realização do TTRr as cinco amostras de sêmen descongelado permaneceram em banho-maria digital por 45°C por 30 minutos. Foi retirado uma alíquota de 20 µL de cada amostra para a avaliação de motilidade e vigor no intervalo de tempo de 15 e 30 min (TTRr15 e TTRr30), seguindo a metodologia de EMERICK et al. (2011).

As médias das variáveis de motilidade e vigor pós descongelamento e de ambos os TTR e TH foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey, ao nível de significância de 5% (SAS, 2002).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que a maioria das amostras de sêmen bovino apresentaram motilidade de 70% e vigor 3 logo após o descongelamento, enquadrando-se no padrão ideal para reprodução preconizado pelo Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998).

Quanto aos aspectos morfológicos (Tabela 1) observa-se que a amostra 3 apresentou os maiores valores de defeitos menores e totais, 30% e 31%, respectivamente, não se enquadrando nos valores de referência de qualidade estabelecidos pela Portaria n.109/2009 do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento-MAPA (Brasil, 2009), que estabelece máximo de 30% de células anormais. Além disso, as amostras 2 e 4 apresentaram 27% de patologias totais; a amostra 5 obteve 26% e a amostra 1 apresentou o melhor perfil morfofisiológico com apenas 13% de patologias totais.

As patologias mais observadas foram caudas dobradas e espermatozoides decapitados que estão inclusos no grupo de Defeitos maiores, seguidos de células com cauda fortemente

dobrada no grupo de Defeitos menores. A maior quantidade de decapitados pode ser relacionado ao uso do corante Rosa Bengala utilizado na metodologia do teste.

Tabela 1 – Motilidade, vigor e defeitos espermáticos, de sêmen bovino, pós descongelamento

Amostra	MOT (%)	Vigor (0-5)	DMa	DMe	DT
1	70	3	3	10	13
2	70	3	5	22	27
3	70	3	1	30	31
4	60	3	2	25	27
5	70	3	4	22	26

MOT= motilidade progressiva retilínea, DMa= defeitos maiores, DMe= defeitos menores, DT= defeitos totais

O teste hiposmótico – THO – auxilia a detectar a boa funcionalidade da cabeça do espermatozoide, pois determina a capacidade da célula em adaptar-se a um meio hipotônico, sendo observado através da porcentagem de dobramento de cauda (BUENO 2000). Além disso, estudos realizados demonstraram correlação negativa entre a quantidade de cauda dobrada e o aumento da penetração no oócito, podendo ser dessa forma um teste complementar para detectar a viabilidade espermática de sêmen descongelado (JEYENDRAN et al. 1984),

O resultado encontrado para THO observado na tabela 2 mostrou que a amostra 2 obteve maior percentual, 25% das caudas dobradas foram ocasionadas pelo teste hiposmótico, resultado próximo a média de 30,8% no THO encontrada por MARTINS et al. (2011) ao avaliar diferentes osmolaridades em touros da raça Nelore. Siqueira et al. (2007) ao utilizar 13 amostras de touros Nelore, obteve média de 53,48%, sendo superior a encontrada nesse estudo. A variabilidade em testes hiposmótico também foi observada em outras pesquisas, provavelmente devido ao comportamento imprevisível da célula espermática diante de cada solução reagente (MELO & HENRY, 1999), fazendo do THO apenas uma avaliação complementar a outros testes.

Tabela 2 – Resultado de teste hiposmótico (THO) realizado em sêmen bovino descongelado

Amostra	Alterações na região	Alterações na região	Hiposmótico (%)
	da cauda após THO (%)	da cauda antes THO (%)	
1	20	4	16
2	45	20	25
3	23	21	2
4	26	23	3
5	30	26	4

Fonte: Próprio autor

No teste de termorresistência lenta, os valores médios de motilidade progressiva e de vigor espermático não apresentaram variação significativa entre as amostras ($P < 0,05$). Nessa análise, a amostra 3 que apresentou resultados mais satisfatórios, 32,5% de motilidade e 2,2% de vigor (Tabela 3).

Tabela 3 – Média e respectivos desvios padrão para motilidade e vigor do sêmen bovino, em relação a amostra de sêmen utilizada, durante teste de termo resistência lento (TTRI)

Amostra	MOT (%)	Vigor espermático (0-5)
1	$30,0 \pm 29,4^a$	$1,7 \pm 1,2^{ab}$
2	$32,5 \pm 29,8^a$	$1,7 \pm 1,2^{ab}$
3	$32,5 \pm 25,0^a$	$2,2 \pm 0,5^a$
4	$27,5 \pm 27,5^a$	$1,5 \pm 1,2^b$
5	$32,5 \pm 26,2^a$	$2,0 \pm 0,8^{ab}$

MOT= motilidade progressiva retilínea.

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste Tukey a 5%

De forma geral, a motilidade e o vigor decaíram em relação as amostras recém descongeladas, (Tabela 4 e 6), que apresentaram média inicial de 69,1% de MOT e 3 de vigor.

Tais resultados foram semelhantes aos encontrados por CUNHA et al. (2012). As amostras no tempo 300 do TTRl (Tabela 4), não conseguiram atingir a porcentagem mínima de 15% de motilidade pós descongelamento preconizado pela CBRA (1998). A motilidade registrada no TTRr, tabela 6, de 38 e 28% respectivamente alcançaram os parâmetros ideais, demonstrando que as células no TTRr são mais resistentes ao calor do que o tempo, condenando menos amostras nesse tipo de teste, observação que foi relatada nos estudos Segundo BARNABÉ et al. (1981).

Tabela 4 – Médias e respectivos desvios padrão para motilidade e vigor do sêmen bovino, em relação ao tempo de avaliação, durante teste de termorresistência lento

Tempo (min)	MOT (%)	Vigor Espermático (0-5)
0	69,1 ± 4,9 ^a	3,0 ± 0 ^a
60	31,6 ± 7,5 ^b	2,0 ± 0 ^b
180	16,6 ± 5,1 ^c	1,6 ± 0,5 ^b
300	5,0 ± 8,3 ^d	0,5 ± 0,8 ^c

MOT= motilidade progressiva retilínea.

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (P<0,05) pelo teste Tukey a 5%

Além disso, houve diferença estatística nos valores de vigor espermático em função do tempo (3, 25, 1,6 e 0,5 respectivamente) (Tabela 4), no teste de termorresistência lento, o que não aconteceu de forma significativa no resultados do TTRr, (Tabela 5), devido provavelmente ao menor tempo de incubação.

Tabela 5 – Médias e respectivos desvios padrão para motilidade (MOT) e vigor espermático bovino de acordo com cada amostra durante teste de termorresistência rápido

Amostra	MOT (%)	Vigor espermático (0-5)
1	36,6 ± 28,8 ^a	1,6 ± 1,5 ^a
2	36,6 ± 30,5 ^a	2,0 ± 1,0 ^a
3	53,3 ± 20,8 ^a	2,6 ± 0,5 ^a
4	56,6 ± 5,7 ^a	2,6 ± 0,5 ^a
5	40,0 ± 26,4 ^a	2,0 ± 1,0 ^a

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (P<0,05) pelo teste Tukey a 5%

Tabela 6 – Médias e respectivos desvios padrão para motilidade e vigor espermático de sêmen bovino em função do tempo no teste de termoresistência rápido (TTRr)

Tempo (min)	Motilidade retilínea progressiva dos espermatozoides (%)	Vigor Espermático (%)
0	69,1 ± 4,9 ^a	3,0 ± 0 ^a
15	38,0 ± 20,4 ^b	2,0 ± 1,0 ^b
30	28,0 ± 14,3 ^b	1,6 ± 0,5 ^b

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (P<0,05) pelo teste Tukey a 5%

A variações estatísticas encontradas em ambos os testes podem ser decorrentes a vários fatores, tais como método de criopreservação, tempo de incubação, tipo de diluente (CUNHA et al. 2012), assim como falha no método de visualização das células, como a avaliação subjetiva da motilidade e do vigor espermático.

A motilidade progressiva do TTRL e TTRr – tabela 3 e 5, respectivamente, não diferiu significativamente entre os valores encontrados (P<0,05). Dessa forma, recomenda-se a utilização do teste de termorresistência rápido por utilizar menos tempo para avaliação do sêmen pós descongelamento, uma vez que o mesmo resultado foi observado por EMERICK (2011).

4 CONCLUSÃO

O teste de motilidade e vigor no tempo zero, juntamente com o teste hiposmótico demonstrou que as amostras de sêmen utilizadas estiveram dentro dos parâmetros de qualidade, assim como a porcentagem de Defeitos totais

Resultados do TTRL demonstraram que as células espermáticas perderam a qualidade quando submetidos a incubação superior a três horas. No TTRr, apesar da temperatura estar mais elevada que o convencional (45°C), os espermatozoides permaneceram com motilidade e vigor ideais para posterior inseminação. Portanto, recomenda-se emprego do TTRr associado ao THO e patologia espermática para avaliação qualitativa do sêmen bovino.

REFERÊNCIAS

- BARNABÉ VH et al. 1981. Estudo comparativo entre as provas rápida e lenta de termorresistência para avaliação de sêmen congelado. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 4: 6-12.
- BLOM E. 1973. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram *Nord Veterinarer Medicin*. 25: 383-391.
- BRASIL 2009. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Portaria n° 109, de 25 de maio de 2009. Institui Grupo de Trabalho no âmbito do Departamento de Fiscalização de Insumos Pecuários - DFIP/SDA, com a finalidade de atualizar o Manual de Procedimentos para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. *Diário Oficial da União*, Brasília. Seq. 1, p. 5.
- BRITO LFC et al. 2003. Comparison of methods to evaluate the plasmalemma of bovine sperm and their relationship with in vitro fertilization rate. *Theriogenology*. 60: p.1539-1551.
- BUENO R. 2000. Criopreservação de sêmen canino, utilizando dois diluidores e dois protocolos de resfriamento. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária. Viçosa: UFV. 92p
- CBRA 1998. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2.ed. Belo Horizonte.
- CORSINI, I. 2022. Brasil exporta 7,1 mil toneladas de carne por dia no início de 2022. Rio de Janeiro. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/business/brasil-exporta-71-mil-toneladas-de-carne-por-dia-no-inicio-de-2022/>. Acesso em: 12 jan. 2023.
- CUNHA ER et al. 2012. Estudo comparativo dos testes de termorresistência rápido, lento e fisiológico em sêmen criopreservado bovino importado. In: reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia. (Ed.). A produção animal no mundo em transformação. Brasília: 1 CD-ROM, 2012.
- EMERICK LL et al 2011. Avaliação da integridade de membrana de espermatozoides bovinos criopreservados para prever o índice de prenhez. *Ciência Animal Brasileira*. 12: p536-546.
- GOLMIA MC. 2010. Produtividade Vs Qualidade. TCC (Graduação em Medicina Veterinária). Botucatu: UNESP. 19p.

JEYENDRAN RS et al. 1984. Development of an assay to assess the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *Journal of reproduction and fertility*. 70: 219-228.

LACOVIDES S & PRIEN S. 2016. Cryoprotectants & Cryopreservation of Equine Semen: A Review of Industry Cryoprotectants and the Effects of Cryopreservation on Equine Semen Membranes. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*. 1: 1-8.

MELO MIV et al. 2005. Teste hiposmótico para avaliação da viabilidade do sêmen equino resfriado com diferentes diluidores. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 57: p.757-763.

MELO MIV & HENRY M. 1999. Teste hiposmótico na avaliação de sêmen equino. *Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia*. 51: 71-78.

NOGUEIRA EM et al. 2013. Biotécnicas reprodutivas para aceleração do melhoramento genético. In: ROSA et al. (Ed.). *Melhoramento genético aplicado a gado de corte*. Brasília: p.195-211. 2013.

PLATZ CC & SEAGER SWJ. 1977. Artificial insemination and frozen semen in the dog. *Vet Clin North Am*. 7: 757-764.

SAMPAIO IBM. 2002. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2.ed. Belo Horizonte.

SILVA MA et al. 2021. Inseminação artificial e inseminação artificial em tempo fixo em bovinos. *Revista Científica do UBM*, p.79-97.

SIQUEIRA JB et al. 2007. Relação da taxa de gestação com sêmen bovino congelado e testes de avaliação espermática in vitro. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 36: 387-395

ANEXOS

1. Revista de Ciências Agroveterinárias publica **Artigo de Pesquisa** (artigo completo), **Nota de Pesquisa** (nota científica) e **Artigo de Revisão** (revisão de literatura), incluídos em quatro grandes seções: Ciência de Plantas e Produtos Derivados, Ciência de Animais e Produtos Derivados, Ciência do Solo e do Ambiente e Multiseções e Áreas Correlatas.

1.1. A seção de **Ciência de Plantas e Produtos Derivados** inclui a publicação de artigos científicos derivados de pesquisa ou revisão de literatura sobre plantas e produtos derivados e a influência direta de fatores abióticos e bióticos sobre seu desenvolvimento e sua produção. As áreas prioritárias da revista são Agronomia e Engenharia Florestal.

1.2. A seção de **Ciência de Animais e Produtos Derivados** inclui a publicação de artigos científicos derivados de pesquisa ou revisão de literatura sobre animais e produtos derivados e a influência direta de fatores abióticos e bióticos sobre seu desenvolvimento e sua produção. As áreas prioritárias da revista são Medicina Veterinária e Zootecnia.

1.3. A seção de **Ciência do Solo e do Ambiente** inclui a publicação de artigos científicos derivados de pesquisa ou revisão de literatura sobre solos, processos e propriedades dos solos, conservação do solo e recursos ambientais. As áreas prioritárias da revista são Solos Agrícolas e Florestais e Recursos Naturais.

1.4. A seção de **Multiseções e Áreas Correlatas** inclui a publicação de artigos científicos derivados de pesquisa ou revisão de literatura (i) em que se realizam estudos envolvendo objetos de seções distintas da revista ou (ii) cujo objeto não está diretamente relacionado com plantas e animais (ou que o foco principal não seja em plantas e animais), mas com fatores abióticos e bióticos que se relacionam com esses organismos (por exemplo, estudos da biologia de insetos, fungos e nematoides, estudos de regulação de máquinas agrícolas, estudos de tecnologia de aplicação de agrotóxicos, estudos de avaliação de métodos e metodologias etc.). As áreas prioritárias da revista são Agronomia, Medicina Veterinária, Engenharia Florestal, Zootecnia e Engenharia Ambiental.

2. Os manuscritos podem ser redigidos em idioma **Português** ou **Inglês** (exceto Artigos de Revisão que devem ser submetidos exclusivamente em inglês). Para artigos em português, há exigência da versão em inglês do título, do resumo, das palavras-chave e do título de figuras e tabelas.

3. O manuscrito deve ser redigido no editor de texto **MS-Word** (.doc, preferencialmente), folha em formato **A4** (21,0 x 29,5 cm), margens de **2,5 cm**, em **espaçamento 1,5**, fonte **Times New Roman**, tamanho **12**, com parágrafo automático e justificado. As páginas devem ser numeradas de forma progressiva no canto superior direito e as linhas numeradas sequencialmente.

4. Carta de Apresentação é obrigatória para todos os manuscritos e é de fundamental importância para a avaliação inicial do manuscrito. A Carta de Apresentação deve ser redigida em um arquivo separado, com no máximo 2 (duas) páginas, e conter: (i) Tipo de Artigo e Seção da Revista (de acordo com o item 1); (ii) Área do Conhecimento (informar a área do conhecimento que está inserido o artigo - subáreas podem ser incluídas); (iii) Título do Artigo (em dois idiomas, conforme o item 2, primeira letra maiúscula, e em negrito); (iv) Autores (nomes e afiliações e e-mail do autor para correspondência); (v) Descrição da Importância do Artigo para Publicação (um breve resumo sobre o estado da arte antes da pesquisa e os avanços no conhecimento com o desenvolvimento da pesquisa); e (vi) Potenciais Revisores (nome, instituição e e-mail de dois potenciais revisores para o artigo).

OBS.: Carta de Apresentação deve ser anexada ao sistema como um arquivo PDF intitulado "carta-apresentação".

5. Artigos de Pesquisa e Artigos de Revisão não têm limite de páginas (recomenda-se até **25 páginas**). **Notas de Pesquisa** devem conter no máximo **10 páginas**. Tabelas e figuras são contabilizadas no limite de páginas.

OBS.: Manuscrito Completo deve ser anexado ao sistema como um arquivo de TEXTO intitulado "manuscrito".

6. Em geral:

6.1. A revista considera **NOTA DE PESQUISA** o artigo de pesquisa original que possui resultados preliminares que permitem uma conclusão de alta relevância imediata, justificando sua publicação, mas que necessita ser validada.

6.2. Não se espera que experimentos únicos de causa-efeito sejam submetidos como **ARTIGO DE PESQUISA**.

6.3. Não se espera que uma simples revisão da literatura, sem conclusão inédita, seja submetida como **ARTIGO DE REVISÃO**.

6.4. Dois arquivos devem ser anexados ao sistema de submissão: (i) Carta de Apresentação e (ii) Manuscrito Completo.

6.5. Submissões que NÃO ESTIVEREM DE ACORDO COM AS NORMAS serão arquivadas.

ESTRUTURA DOS ARTIGOS

7. Artigos de Pesquisa devem conter os seguintes tópicos: Título, conciso e objetivo (em dois idiomas, conforme item 2); Resumo, com no máximo 300 palavras (em dois idiomas, conforme item 2); Palavras-chave, no máximo 6 (em dois idiomas, conforme item 2); Introdução; Material e Métodos; Resultados; Discussão (pode ser incluída em uma única seção Resultados e Discussão); Conclusão; Agradecimentos (elemento opcional); e Referências (conforme item 16). O título dos tópicos do artigo deve ser escrito em letras maiúsculas e em negrito.

7.1. Para textos em inglês, usar os seguintes títulos de tópico: Title, Abstract, Keywords, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Acknowledgements e References.

8. Notas de Pesquisa devem conter os seguintes tópicos: Título, conciso e objetivo (em dois idiomas, conforme item 2); Resumo, com no máximo 200 palavras (em dois idiomas, conforme item 2); Palavras-chave, no máximo 6 (em dois idiomas, conforme item 2); Corpo Principal do Texto (não deve conter subdivisões, porém o texto deve ser estruturado na sequência: introdução, metodologia, resultados, discussão e conclusão, podendo conter tabelas e figuras); Agradecimentos (elemento opcional); e Referências (conforme item 16). O título dos tópicos do artigo deve ser escrito em letras maiúsculas e em negrito.

8.1. Para textos em inglês, usar os seguintes títulos de tópico: Title, Abstract, Keywords, Acknowledgements e References.

9. Artigos de Revisão devem conter os seguintes tópicos: Título, conciso e objetivo (em dois idiomas, conforme item 2); Resumo, com no máximo 300 palavras (em dois idiomas, conforme item 2); Palavras-chave, no máximo 6 (em dois idiomas, conforme item 2); Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Agradecimentos (elemento opcional); e Referências (conforme item 16). O título dos tópicos do artigo deve ser escrito em letras maiúsculas e em negrito.

9.1. São aceitos 3 tipos de artigos de revisão: (i) revisão não sistemática, (ii) revisão sistemática e (iii) meta-análise. Revisão não sistemática é aquela em que o autor escolhe artigos de

interesse, normalmente de maior impacto, sobre determinado assunto de seu conhecimento, disserta sobre um ou mais pontos específicos (conflitantes ou com pouco conhecimento) e faz suas conclusões. Revisão sistemática é aquela em que o autor seleciona artigos de determinado assunto de interesse global, seguindo critérios específicos de revisão da bibliografia (que devem ser descritos no artigo), disserta sobre um ou mais pontos específicos (conflitantes ou com pouco conhecimento) e faz suas conclusões. Meta-análise é um artigo em que o autor seleciona artigos de determinado assunto polêmico ou com resultados conflitantes, de interesse global, seguindo critérios específicos de revisão da bibliografia (que devem ser descritos no artigo), reanalisa estatisticamente os dados, discute os resultados publicados e os resultados de sua análise e faz suas conclusões.

9.2. O artigo de revisão deverá ser redigido em inglês e sua publicação, após o aceite, fica condicionada à revisão técnica de inglês. O autor deve providenciar particularmente a revisão linguística e apresentar o atestado de revisão do artigo a ser publicado.

9.3. O artigo de revisão, aceito e revisado, será publicado imediatamente na próxima edição da revista, independentemente da fila de artigos a serem publicados.

ELEMENTOS GRÁFICOS

10. Elementos gráficos (gráficos, fotografias e desenhos são designados como Figuras, e Tabelas) devem ser incluídos imediatamente após serem citados no texto e numerados sequencialmente (por. ex. Figura 1. Título...; ou Tabela 1. Título...). Figuras devem ser inseridas no corpo do texto a partir de arquivos JPG (300 dpi ou mais).

11. Figuras coloridas são aceitas.

12. Tabelas e figuras devem estar em orientação de retrato, não excedendo os limites da página.

13. Título de tabelas e figuras de manuscritos em português deve também ser fornecido em inglês. Manuscritos em inglês não necessitam da versão em português do título das tabelas e figuras.

RECOMENDAÇÕES GERAIS

14. O nome dos autores não deve ser incluído no manuscrito, somente no processo de submissão on-line.

15. Citações no Texto:

a) (MOULTON 1978), (DUBEY & PORTERFIELD 1990) ou (MARSH et al. 1998) para três ou mais autores. Esta forma é preferida pela revista.

b) De acordo com TENDER (2000), SANTOS & BARROS (1999) ou MARSH et al. (1998) para três ou mais autores. Esta forma deve ser usada apenas em situações específicas, optando geralmente pela forma acima.

16. Referências:

a) CARVALHO LB, CARVALHO LB & BIANCO MS ou CARVALHO LB et al. para três ou mais autores.

b) O título dos periódicos deve ser completo (não abreviar). A cidade de publicação do periódico e o número da edição não devem ser citados (veja abaixo).

c) Modelos de referências:

Artigos Completos

CARMO M et al. 2017. Portuguese cropland in the 1950s: The transition from organic to chemical fertilization. Scientific Reports 7: 8111.

CHEN Y et al. 2017. Changes in bacterial community of soil induced by long-term straw returning. Scientia Agricola 74: 349-356.

Livros e Capítulos de Livros (devem ser evitados)

DENTON GW. 1990. Iodophors: disinfection, sterilization and preservation. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger.

CONCANNON PW & DIGREGORIO GB. 1986. Canine vaginal cytology. In: BURKE TJ. (Ed.). Small animal reproduction and infertility: a clinical approach to diagnosis and treatment. Philadelphia: Lea & Febiger. p.96-111.

Resumos em Anais de Eventos (devem ser evitados)

GROLI PR et al. 1993. Propagação “in vitro” de *Limonium latifolium* Kuntze 15/O. Kuntze. In: 1 Encontro Brasileiro de Biotecnologia Vegetal. Resumos... Brasília: EMBRAPA. p.79.

Teses, Dissertações (devem ser evitadas)

RADUNZ NETO J. 1981. Desenvolvimento de técnicas de reprodução e manejo de larvas e alevinos de jundiá (*Ramalia quelen*). Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Santa Maria: UFSM. 77p.

Boletim, Circular Técnica, Manual (devem ser evitados)

BECK AAH. 1983. Eficácia dos anti-helmínticos nos nematódeos dos ruminantes. Florianópolis: EMPASC. 10p. (Boletim Técnico 60).

Documentos Eletrônicos (devem ser evitados)

RIBEIRO PSG. 1998. Adoção à brasileira: uma análise sócio-jurídica. São Paulo: Datavenia. Disponível em: <http://www.datavenia.inf.br/frameartrig.html>. Acesso em: 10 set. 1999.

GARDNER AL. 1986. Técnicas de pesquisa em pastagem e aplicabilidade de resultados em sistemas de produção. Rio de Janeiro: UFRRJ. (CD-Rom).

******Para os casos de referências bibliográficas não previstas nos exemplos acima, consultar o editor-chefe da revista.

17. Unidades de medida devem ser descritas de acordo com o Sistema Internacional [porcentagem deve vir junto ao número (10%), enquanto as demais unidades devem vir separadas (10 cm, 30 °C, 2 m s⁻¹ etc.)].