

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/09/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL E RADIOLOGIA
VETERINÁRIA

**ADIÇÃO DE CASEINATO DE SÓDIO AO DILUENTE DE
REFRIGERAÇÃO DE SÊMEN EQUINO**

VICTOR FILGUEIRAS CRUZ GARCIA

BOTUCATU – SP
Setembro 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL E RADIOLOGIA
VETERINÁRIA

ADIÇÃO DE CASEINATO DE SÓDIO AO DILUENTE DE REFRIGERAÇÃO DE SÊMEN EQUINO

VICTOR FILGUEIRAS CRUZ GARCIA

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus de Botucatu, para defesa de Dissertação de Mestrado no programa de pós-graduação em Biotecnologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Dell’Aqua Junior

BOTUCATU – SP
Setembro 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Garcia, Victor Filgueiras Cruz.

Adição de caseinato de sódio ao diluente de
refrigeração de sêmen equino / Victor Filgueiras Cruz
Garcia. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: José Antonio Dell'aqua Junior
Capes: 50504002

1. Equino. 2. Caseína. 3. Preservação do sêmen.
4. Biotecnologia animal.

Palavras-chave: Caseína; Diluidor; Sêmen refrigerado.

Nome do Autor: Victor Filgueiras Cruz Garcia

Título: **ADIÇÃO DE CASEINATO DE SÓDIO AO DILUENTE DE REFRIGERAÇÃO DE SÊMEN EQUINO.**

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Antonio Dell'Aqua Junior

Orientador

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ- UNESP- Botucatu

Prof. Dr. Marco Antonio Alvarenga

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ- UNESP- Botucatu

Profa. Dr. Rubens Paes de Arruda

Membro

Departamento de Reprodução Animal

FMVZ- USP- Pirassununga

Data da defesa: 29 de Setembro de 2016

*Dedico essa dissertação aos meus pais, **Ramon e Cássia**, que com muito esforço e amor me possibilitaram estar aqui. Meus irmãos, **Felipe e Bia**, aos familiares e a **Gabi** por tanta paciência, compreensão e amor.*

*Ao meu orientador, **José Antonio Dell'Aqua Junior**, pela confiança depositada em mim e por todo conhecimento transmitido.*

Agradecimentos

Agradeço a Deus, pois é Ele que sempre regi o que acontece na minha vida, permitindo que eu estivesse aqui hoje.

Aos meus pais, Ramon e Cássia, por serem exemplo de amor e caráter. Sei o quanto se sacrificaram para que eu pudesse ter sempre o melhor possível. Amo vocês!

Aos meus irmãos Felipe e Bia, e a minha cunhada Manuela, pelo amor, carinho e apoio. Este período de distância serviu para nos unir ainda mais.

À minha família (avós, tios, tias, primos e primas) por toda compreensão ao longo desta jornada.

À Gabi, meu amor, por estar sempre ao meu lado, me apoiando, incentivando e vibrando a cada vitória. Te amo!

Aos amigos, desde aqueles que “trouxe” comigo da Bahia até os que foram cativados aqui em Botucatu. Não citarei nomes, vamos evitar esquecimentos!! Todos vocês tornaram meus dias melhores, obrigado!

Agradeço ao meu orientador José Antonio Dell’Aqua Junior e a Camila De Paula Freitas Dell’Aqua, por toda confiança, pelos ensinamentos e “puxões de orelha”, mas principalmente pela relação construída. Mutio obrigado.

Agradeço aos professores do Departamento de Reprodução Animal, pelos conhecimentos a mim transferidos. Obrigado por tudo.

Aos funcionários do Departamento de Reprodução Animal da UNESP-Botucatu, pela amizade, vocês também foram essenciais nesta caminhada.

À Universidade Federal da Bahia, que me deu a base de tudo, em especial aos Profº. Dr. Alberto Lopes Gusmão e Profº. Dr. Max Vitoria Resende, muito obrigado!

Enfim, agradeço a todos que contribuíram para a elaboração e sucesso deste trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	1
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1- Célula espermática.....	3
2.2- Membrana plasmática.....	4
2.3- Plasma Seminal.....	6
2.4- Diluentes.....	7
2.5- Estrutura, função e mecanismo de ação da caseína.....	11
2.6- Sêmen refrigerado: Leite <i>versus</i> Caseína.....	14
REFERÊNCIAS	16
CAPÍTULO II	17
SUBSTITUIÇÃO DO LEITE DESNATADO PELO CASEINATO DE SÓDIO PARA REFRIGERAÇÃO DE SÊMEN EQUINO.....	23
CAPÍTULO III	35
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	36

GARCIA, V.F.C (2016). **Adição de caseinato de sódio ao diluente de refrigeração de sêmen equino**. Botucatu, 2016, 35 p., Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, departamento de reprodução animal e radiologia veterinária.

Resumo

Dentre as biotecnologias aplicadas na espécie equina, a refrigeração de sêmen tem papel de destaque por ser acessível e permitir grande avanço genético. O emprego da refrigeração possibilita o uso de garanhões sem que necessite transporte dos reprodutores, diminuindo custos e riscos. Porém para manutenção das células espermáticas em baixas temperaturas com a adequada proteção às crio injúrias se faz necessário o uso de diluentes que não interagir com os espermatozoides conferindo estabilidade a membrana. O estudo destes diluentes esclarece questões quanto a sua ação e mecanismos de proteção, entretanto os diluentes de maior disponibilidade e consequentemente mais empregados são os compostos por leite em pó desnatado, lhe dando uma composição variável, de difícil repetibilidade entre os lotes. Neste sentido é indicado a busca por substâncias que promovam a devida proteção espermática e tornem os diluentes mais eficientes. O objetivo desta revisão foi estudar o emprego da caseína como substitutivo para o leite em pó desnatado.

Palavras-chave: caseína, diluidor, sêmen refrigerado.

GARCIA, V.F.C (2016). **Addition of sodium caseinate in the extender of equine semen refrigeration**. Botucatu, 2016, 35 p., Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, departamento de reprodução animal e radiologia veterinária

Abstract

Among biotechnology for equine, semen cooling has an important role to be accessible and allow large genetic advancement. The use of cooling permits the use of studs without the need to transport stallions, reducing the costs and risks. However, to maintain low temperatures and adequate protection to create injuries to the use of extenders is required that will interact with the stability check sperm membrane. The study of these extenders answers questions about its mechanisms of action and protection, however, the extenders of greater availability and therefore more used in routine is based on milk skimmed milk powder, giving it a variable composition, difficult repeatability between lots. In this sense it is given for the search for substances that promote adequate protection of spermatozoa and make them more efficient diluents. The objective of this review was to study the use of casein as a substitute for skimmed milk powder.

Palavras-chave: casein, diluent, cooled semen.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

A indústria equina teve um grande avanço nos últimos anos, e atualmente tem importante participação no Produto Interno Bruto nacional, gerando montantes superiores a 7,3 bilhões de reais, sendo responsável por 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos em cerca de 30 setores (LIMA; SHIROTA; BARROS, 2006). Como parte deste sucesso diretamente ligado aos progressos biotecnológicos na área da reprodução equina mundial. Podendo citar, dentre estas biotecnologias, a utilização do sêmen refrigerado equino. Técnica esta que se sobressai como a ferramenta mais utilizada nesse seguimento.

Em um cenário globalizado, onde as inter-relações entre os países estão mais estreitas, é preciso buscar soluções para o fomento do comércio exterior e valorização da biotecnologia nacional. Neste sentido se faz necessário a determinação de um diluidor sintético para refrigeração do sêmen equino que possa romper barreiras sanitárias e ser comercializado internacionalmente. Contudo, os meios diluentes devem apresentar a capacidade de manter a integridade e viabilidade dos espermatozoides durante o processo de refrigeração e transporte. O sucesso no uso do sêmen refrigerado envolve muitos fatores, dentre estes, a temperatura de armazenamento, composição do diluente, número de espermatozoides inseminados e número de inseminações (BATELLIER et al, 2001).

Entre as vantagens da refrigeração, destacam-se a otimização do uso de ganhões com comprovada superioridade genética através do prolongamento da viabilidade das células espermáticas e possibilidade de envio de doses inseminantes para uso em matrizes que estejam distantes do ganhão, além da diminuição de custos e risco de acidentes durante o transporte dos animais. Além do controle sanitário, redução das chances de transmissão de doenças carreadas pelo contato sexual ou qualquer outra enfermidade alheia ao ambiente onde se encontra a égua (BRINSKO; VARNER, 1992).

Segundo Canisso et al. (2008) entre os diluentes mais utilizados em todo mundo estão aqueles à base de leite em pó desnatado, sendo derivações do descrito por Kenney et al. (1975). Pesquisas apontam que o armazenamento

nas temperaturas entre 4 e 6°C conferem resultados mais satisfatórios em relação ao armazenamento entre 15 ou 20°C quando comparados aos diluentes a base de leite (PALMER, 1984; SQUIRES et al., 1988; VARNER et al., 1988; VARNER et al., 1989; MORAN et al., 1992).

Contudo, algumas pesquisas vêm evidenciando a superioridade de novos diluentes cuja as bases são frações específicas do leite, tal como as caseínas. Além de poder prevenir interações indesejáveis com substâncias presentes no leite que podem agir diminuindo a capacidade de fertilização e sobrevivência dos espermatozoides devido a indução da reação acrossomal (PIERRE et al., 1992; POMMER et al., 2002; AURICH, 2008), o uso de diluentes tendo como base as caseínas podem interagir com proteínas plasmáticas específicas elevando o potencial gerador deste sêmen (MANJUNATH, 2012).

Neste sentido, diluentes compostos por caseinatos têm sido incluídos em experimentos com sêmen equino, contudo a literatura ainda é discreta e carece de resultados mais expressivos. Assim sendo, o objetivo do presente estudo é verificar se a substituição do leite pelo caseinato de sódio no diluente para sêmen refrigerado equino proporciona características espermáticas adequadas para manutenção da viabilidade espermática.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso da biotecnologia de refrigeração de sêmen representa um importante avanço genético para espécie equina, contudo os diluidores a base de leite em pó desnatado não são satisfatórios para se utilizar em todos os garanhões, principalmente aqueles que se apresentam pouco resistentes ao choque frio.

Demonstrar que caseinatos são efetivamente capazes de promover proteção adequada e longevidade as células espermáticas é importante para alavancar novos estudos. O desenvolvimento e aplicação destes diluidores tem o potencial de garantir trocas genéticas mais fáceis e seguras, reduzindo problemas sanitários e ampliando as reservas genéticas das raças.