

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CAMPUS DE CHAPADINHA
CENTRO DE CIÊNCIAS DE CHAPADINHA
CURSO DE ZOOTECNIA

CARLOS EDUARDO LEANDRO CAMPOS

**EFEITO DA GOMA BRUTA DE CAJÁ NA CRIOPRESERVAÇÃO DO SÊMEN
BOVINO**

CHAPADINHA/MA
2023

CARLOS EDUARDO LEANDRO CAMPOS

**EFEITO DA GOMA BRUTA DE CAJÁ NA CRIOPRESERVAÇÃO DO SÊMEN
BOVINO**

Monografia apresentada à coordenação do curso de Zootecnia, da Universidade Federal do Maranhão, como requisito indispensável à obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientador (a): Dra. Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco.

CHAPADINHA – MA
2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Leandro Campos, Carlos Eduardo.

Efeito da Goma Bruta de Cajá na Criopreservação de
Sêmen Bovino / Carlos Eduardo Leandro Campos. - 2023.
36 p.

Orientador(a): Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo
Branco Carvalho Castelo Branco.

Monografia (Graduação) - Curso de Zootecnia,
Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, 2023.

1. Criopotetor. 2. Criopreservação. 3. Diluidor. 4.
Ejaculado. 5. Sêmen. I. Carvalho Castelo Branco, Yndyra
Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco. II. Título.

CARLOS EDUARDO LEANDRO CAMPOS

**EFEITO DA GOMA BRUTA DE CAJÁ NA CRIOPRESERVAÇÃO DO SÊMEN
BOVINO**

**Monografia apresentada ao curso de Zootecnia, da Universidade Federal do Maranhão,
como requisito indispensável à obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.**

Aprovada em: 07/ 12/ 2023

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco
Universidade Federal do Maranhão – UFMA
(Orientadora)

Caroline Silva Martins
Zootecnista, Mestranda da Universidade Federal do Maranhão – UFMA
(Membro interno)

Prof Dr. Alécio Máτος Pereira
Universidade Federal do Maranhão – UFMA
(Membro interno)

CHAPADINHA-MA
2023

AGRADECIMENTOS

Começo meus agradecimentos ressaltando a importância de Deus nessa trajetória. Ele que sempre esteve ao meu lado, me fortalecendo e guiando sempre.

A todos da instituição que contribuíram para a realização desse trabalho, em especial a Prof^a Dra. Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco, por orientar com tanta paciência, dedicação e encorajamento durante o desenvolvimento da pesquisa.

Quero agradecer as pessoas que realmente são especiais na minha vida, Carissa Andrade, Andressa, Lídia, Silas Pereira, Eduardo Arouche, Seu Luís, minhas antigas colegas de moradia, Suelanne Camargo, Mayane, Luana, Tainara, Baby aos meus amigos do grupo de pesquisa, Alana Samira, Thavila Chaves, Jardsom, Arlan, Thiago Santos, Anailsom, Nagylla, Nayonara, Isabele, Janylle Loiola, Samira Santos, Livia, Douglas Pimenta.

Ao meu grande amigo que me ajudou em todos os processos da graduação, Izaquiel Reis, você foi uma das melhores amizades que a UFMA me proporcionou, um cara realista uma pessoa sensata, um cara que me ensinou muita coisa durante essa graduação.

A minhas amigas Emanuelle e Carol, Viviane, amigas que me proporcionaram momentos incríveis durante todo o processo de graduação.

Um agradecimento especial para os professores Marcos Bonfim, Jeferson Siqueira, Cassiel, Eduardo.

A um grande amigo e professor que me ensinou a viver a universidade de maneira diferente das outras pessoas, um cara que olhou para mim no começo da minha graduação e acreditou em mim, um cara que me ajudou muito durante todo o decorrer da graduação declaro esses agradecimentos ao professor Dr Zinaldo Firmino.

Aos meus pais e irmãos, por todo amor e confiança depositados em mim durante a minha graduação. Por fim, aos amigos e companheiros de pesquisa, por me auxiliar durante este estudo.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações da goma bruta de cajá na criopreservação do sêmen bovino. Foram registradas a temperatura e a umidade relativa do ar através de termômetros de globo negro acoplados a um datalogger. Uma vez por semana, antes, durante e após as coletas de sêmen, foram registradas as temperaturas superficiais do corpo e testículos dos touros através da câmera termográfica de infravermelho modelo Fluke TiS10. Foram coletados sete touros em triplicata, por eletroejaculação e avaliado quanto aos aspectos macroscópicos e microscópicos. Em seguida as amostras foram submetidas a diluição em meio de criopreservação Tris-gema com e sem glicerol, com os seguintes tratamentos: Controle: Tris-Gema + 6% glicerol; T1: Tris-Gema + 3% glicerol; T2: Tris-Gema + 0% glicerol; T3: Tris-Gema + 0,5% goma bruta de cajá; T4: Tris-Gema + 1,5% goma bruta de cajá; T5: Tris-Gema + 5,5% glicerol + 0,5% goma bruta de cajá. Foram utilizadas palheta de 0,25 mL, com concentração de 40 milhões/sptz. As amostras foram congeladas com meio automatizado em curva lenta de criopreservação, e armazenadas em botijão criogênico (-196 0C). Após descongelamento as amostras foram avaliadas quanto aos testes de termorresistência rápido, e morfologia espermática. O experimento foi realizado em delineamento de blocos casualizado. Foi realizado o teste de variância (ANOVA), e aplicado o teste Duncan para comparação de médias. A motilidade total foi superior no controle, T1 e T5, em relação aos T2, T4 e T3, ao tempo zero de incubação, e manteve a ordem de superioridade em relação aos tempos 15 e 30 minutos. Os defeitos de caudas foram inferiores nos T2, T3, T4, e T5 e maiores no grupo controle. Para defeitos totais os tratamentos apresentaram médias inferiores quando comparados ao controle. Foi demonstrado que a qualidade do sêmen fresco foi maior nos animais menos reativos. Os parâmetros bioclimáticos afetam mais amplamente a temperatura testicular e a qualidade de sêmen durante a coleta. A adição da goma de cajá ao diluidor seminal preservou a morfologia espermática.

Palavras-chave: Andrologia. Avaliação seminal. Congelamento. Diluidor. Goma.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of different concentrations of raw cajá gum on the cryopreservation of bovine semen. The temperature and relative humidity of the air were recorded using black globe thermometers coupled to a datalogger. Once a week, before, during and after semen collections, the surface temperatures of the bulls' bodies and testicles were recorded using an infrared thermographic camera model Fluke TiS10. Seven bulls were collected in triplicate, by electroejaculation and evaluated for macroscopic and microscopic aspects. The samples were then subjected to dilution in Tris-gema cryopreservation medium with and without glycerol, with the following treatments: Control: Tris-gema + 6% glycerol; T1: Tris-Gem + 3% glycerol; T2: Tris-Gem + 0% glycerol; T3: Tris-Gem + 0.5% raw cajá gum; T4: Tris-Gem + 1.5% raw cajá gum; T5: Tris-Gem + 5.5% glycerol + 0.5% raw cajá gum. A 0.25 mL straw was used, with a concentration of 40 million/sptz. The samples were frozen with automated means in a slow cryopreservation curve, and stored in a cryogenic cylinder (-196 0C). After thawing, the samples were evaluated for rapid thermoresistance tests and sperm morphology. The experiment was carried out in a randomized block design. The variance test (ANOVA) was performed, and the Duncan test was applied to compare means. Total motility was higher in the control, T1 and T5, in relation to T2, T4 and T3, at zero incubation time, and maintained the order of superiority in relation to times 15 and 30 minutes. Tail defects were lower in T2, T3, T4, and T5 and greater in the control group. For total defects, treatments presented lower averages when compared to the control. It was demonstrated that the quality of fresh semen was higher in less reactive animals, that bioclimatic parameters more broadly affect testicular temperature and semen quality during collection. The addition of cajá gum to the seminal extender preserved sperm morphology.

Keywords: Andrology. Seminal evaluation. Freezing. Diluter. Gum.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - (a) Temperatura corporal animal e (b) temperatura testicular animal antes do procedimento.....	23
Figura 2 - (a) Temperatura corporal animal e (b) temperatura testicular animal durante o procedimento.....	23
Figura 3 - (a) Temperatura corporal animal e (b) temperatura testicular animal depois do procedimento.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média \pm erro padrão das temperaturas obtidas por termografia ($^{\circ}\text{C}$) do corpo do animal (TC) e do testículo (TT) antes, durante e pós coleta de sêmen, e características macroscópica e microscópica do ejaculado de cada touro.....	22
Tabela 2 - Média e erro-padrão do percentual de Motilidade Total (MT) e Vigor, do sêmen criopreservado de bovinos, avaliados pelo teste de termorresistência rápido (TTR).	25
Tabela 3 - Média e erro-padrão do percentual de morfologia espermático em sêmen criopreservado de bovinos.	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NACL	Cloreto de sódio
H ₂ O	Água
H ⁺	Hidrogênio
NA ⁺	Sódio
K ⁺	Potássio
CA	Cálcio
Mg	Magnésio
FE	Ferro
CBRA	Colégio Brasileiro de Reprodução Animal
µL	Microlitro de Chapadinha CEUA Comissão de Ética no Uso de Animais
TT	Temperatura testicular
TC	Temperatura corporal
MT	Motilidade total
TTR	Teste de Termorresistência Rápido
PI	Peça intermediária
CCCH -C	Centro de Ciências de Chapadinha
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
C	Controle
T1	Tratamento 1
T2	Tratamento 2
T3	Tratamento 3
T4	Tratamento 4
T5	Tratamento 5
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
ABTS	radical 2,2- azinobis(3-etilbenzotiazolona-6-ácido sulfônico)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVO	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos.....	13
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1	Termorregulação	14
3.2	Espermatogênese	14
3.3	Diluidores	15
3.4	Princípios da criopreservação.....	16
3.5	Sêmen bovino criopreservado	17
3.6	Goma bruja de cajá.....	18
4	MATERIAL E MÉTODOS	20
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
6	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

A técnica de inseminação artificial, utilizando sêmen criopreservado em bovinos, é uma forma de manejo comum para aperfeiçoar a génetica do rebanho, ocasionando assim um aumento da produtividade (Boni, 2012). Um fator importante na pecuária é o uso da criopreservação de sêmen, pois acelera e permite que a diversidade genética seja disseminada e ajuda que os animais geneticamente superiores sejam distribuídos pelo mundo (Ugur et al., 2019).

No entanto o processo de congelamento e descongelamento do sêmen, pode provocar alguns danos na estrutura celular que advém de alguns fatores, como formação intracelular de cristais de gelo e diminuição da temperatura antes do congelamento (Zeron et al., 1999). Tendo em vista isso, alguns diluentes são testados, a fim de ter mais qualidade e durabilidade dos espermatozoides, na tentativa de proporcionar ao máximo o material genético do animal (Silva et al, 2011).

Segundo Loomis (1992), vários são os fatores que influenciam e determinam que a criopreservação tenha sucesso. Dentre esses fatores, o espermatozoide precisa de um ambiente propício, que é proporcionado através dos extensores seminais, minimizando os danos a membrana celular, para que não seja acionado antecipadamente o mecanismo de capacitação espermática e reação do acrossoma.

Segundo Valverde (2016), uma forma de melhoramento da técnica de criopreservação é a utilização de polissacarídeos naturais e atóxicos, que através de matérias primas renováveis sejam preparados e tenham características que possibilitem a preservação do sêmen após a conservação em baixas temperaturas. Com a intenção de manter a funcionalidade dos espermatozoides ao serem submetidos a baixas temperaturas, vários estudos são realizados, a fim de obtenção de novos materiais capazes de cessar ou diminuir danos acometidos na criopreservação seminal.

Dentre os compostos que possuem potencial para redução dos efeitos deletérios da criopreservação a goma bruta de cajá estudada por Moura (2013), que demonstrou ter o pó de cajá percentual de solubilidade, característica importante visando a utilização do produto. Quanto ao potencial antioxidante medida através do método DPPPH e ABTS, a cajá apresentou valores de ação intermediário, podendo ser justificado pelo baixo teor de fenólicos presentes no pó de cajá atomizado. Não há registro até a presente data, de trabalhos na literatura sobre a goma bruta de cajá na criopreservação de sêmen bovino.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar a funcionalidade do sêmen bovino após a adição de goma de cajá ao meio diluidor de criopreservação.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a utilização da termografia por infravermelho como método complementar do exame andrológico.
- Analisar o efeito da goma bruta de cajá sobre a motilidade e vigor espermático em sêmen criopreservado de bovino.
- Verificar o efeito da goma bruta de cajá sobre a morfologia espermática em sêmen criopreservado de bovino

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Termorregulação

Assim como no meio ambiente ocorre variações térmicas, nos animais isso pode acarretar em estresse, causando uma redução na produtividade e reprodução. Vale ressaltar que os animais conseguem se adaptar a essas adversidades climáticas, tanto comportamental como fisiologicamente, de forma a sustentar a homeostase orgânica e então minimizando as consequências adversas. No entanto, ao tentar realizar o ajuste e adaptação as condições climáticas, pode ocorrer de atingir funções menos vitais ao organismo, como o bem-estar, desempenho, quando a intensidade e duração dos estressores extrapolam a capacidade compensatória do organismo (Dantas et al, 2012).

Segundo Ferreira et al. (2006) A resistência dos bovinos ao estresse causado pelo calor cresce quando a combinação entre a umidade relativa e a temperatura ambiente excede o nível ideal de conforto térmico. Isso torna mais difícil a dissipação de calor, levando a um aumento na temperatura corporal, o que por sua vez afeta negativamente o desempenho dos animais. O estresse térmico causa mudanças na estabilidade interna do corpo e tem sido avaliado por meio da medição de indicadores fisiológicos, como temperatura retal, frequência respiratória e níveis hormonais. A capacidade dos animais de lidar com esse estresse tem sido avaliada observando as mudanças na temperatura retal e na frequência respiratória.

Na natureza, o ambiente térmico é intrincado devido à constante variação no tempo e no espaço da radiação solar, da velocidade do vento, da temperatura e da umidade do ar (Dantas et al, 2012). A interação desses elementos com as distintas características dos organismos significa que qualquer mudança ambiental pode desencadear adaptações comportamentais e fisiológicas nos seres vivos. Essas respostas visam manter o equilíbrio térmico, conhecido como homeotermia nos animais, e quando afetadas, configuram a condição de estresse (Finch, 1984).

3.2 Espermatogênese

Durante a espermatogênese, os gonócitos, as células germinativas primárias, passam por diferenciação para se tornarem espermatozoides, sendo um processo cíclico (Griffin, 1988; Curtis e Amann, 1981; Courot et al., 1970).

Na espécie bovina, o início da puberdade está relacionado à capacidade das células de Leydig de responder ao estímulo do hormônio LH (Boockfor et al., 1983), aumentando a quantidade de testosterona, as células de Leydig controlam a diferenciação das células de Sertoli e, por consequência, diversas das suas funções (Griffin, 1988). Esses processos regulam a espermatogênese de maneira interligada, de modo que mudanças na função das células de Sertoli impactam o crescimento das células germinativas (Sharpe, 1994; Sharpe et al., 2003). As interrupções no processo espermatogênico também interferem nas células de Sertoli (Moura e Erickson, 2001), essas alterações, em última análise, afetam o desenvolvimento normal e a capacidade reprodutiva dos animais. Portanto, compreender a espermatogênese e a fisiologia testicular é essencial para identificar possíveis causas de infertilidade e subfertilidade, e entender os processos que determinam a capacidade de produção de espermatozoides.

3.3 Diluidores

Os Diluidores preservam a viabilidade das células durante o congelamento e são compostos de sais e carboidratos. O diluidor deve ser isotônico, evitando a ativação e a motilidade espermática, além de ser estéril, estável ao longo do armazenamento e carreador de crioprotetores (Maria, 2005).

Os diluentes são substâncias não-iônicas e iônicas, que obstruem o meio e promove a osmolaridade. O crioprotetor faz parte da sua composição, além de ser uma fonte de aditivos e lipoproteína (Leite et al., 2011; Bertol et al., 2014). O leite desnatado reconstituído ou fresco, a lecitina de soja, a água de coco e o leite de vaca integral homogeneizado (Leite et al., 2011), a gema de ovo (Fujita et al., 2013; Madeira et al., 2013), são usados como fonte de lipoproteína com o objetivo de proteger contra o choque térmico. As enzimas antibióticas e antioxidantes são aditivos usados na criopreservação seminal (Leite et al., 2011; Bertol et al., 2014).

O diluidor tem como intuito proteger a célula espermática ao congelar e descongelar, evitando danos provocado pelo choque térmico. Os meios diluentes são compostos por crioprotetores, antibióticos, açúcares e tampões com o objetivo de que forneça proteção contra o frio, nutrição, inibição bacteriana e manutenção do pH (Graham, 1995).

Para obter melhor desempenho na criopreservação a escolha certa dos diluidores e crioprotetores é essencial, bem como também o protocolo utilizado. O glicerol é uma substância capaz de penetrar na membrana celular por difusão passiva. Sua principal ação na criopreservação é inibir a formação de cristais de gelo dentro da célula (Fracaro, 2022).

O glicerol é o crioprotetor utilizado com mais frequência na criopreservação do sêmen em diferentes espécies. O primeiro estudo sobre utilização do glicerol como função crioprotetora para o sêmen foi no ano de 1950, pelos pesquisadores Smith e Polge. Eles demonstraram que o glicerol pode ser uma crioprotetor efetivo para a diminuição de água intracelular durante o processo de criopreservação (Oliveira, 2020).

Polge et al. (1949) ao avaliar a atividade dos espermatozoides após vitrificação e desidratação em baixas temperaturas, observaram que bons resultados foram obtidos com o glicerol, como agente crioprotetor para congelação de células espermáticas de aves, e na congelação do sêmen bovino.

No processo de criopreservação do sêmen a avaliação do uso desses diluidores se dá por alterações celulares, como aumento na permeabilidade da membrana plasmática, inibição de atividades enzimáticas e indução da fusão membranar (Fahy, 1986).

A toxicidade atribuída ao diluidor está relacionada a adição do crioprotetor e a alteração de ordem bioquímica na célula. O glicerol devido ser um crioprotetor que penetra nas membranas celulares mais facilmente, desencadeia choque osmótico, apresentando toxicidade celular (Amann e Pickett, 1987; Hammersted e Graham, 1992).

Tem sido buscado a utilização de crioprotetores que possuam baixo peso molecular, grande solubilidade em água e mínima toxicidade. que possam induzir baixos danos osmóticos a célula espermática (Alvarenga et al., 2005).

3.4 Princípios da criopreservação

A criopreservação consiste na utilização de crioprotetores específicos que possibilitam o armazenamento de doses de sêmen, por período indeterminado em nitrogênio líquido a -196°C , com intuito de reduzir os riscos e custos relacionado a aquisição dos reprodutores e transporte, facilitando a difusão do material genético em locais distantes e também é frequentemente usada na preservação de esperma, óvulos, embriões, tecidos e órgãos para aplicação em reprodução assistida, pesquisa médica, transplantes e conservação de material genético. (Baruselli et al., 2018). Na inseminação artificial, seja em bovinos de corte ou leite, utiliza-se sêmen criopreservado, esta estratégia de manejo foca melhorar a genética do rebanho, a fim de aumentar a produtividade em todos os aspectos do rebanho (Felippelli et al., 2023).

A criopreservação auxilia o aumento da produtividade, já que a adoção adequada da técnica é fundamental para o desenvolvimento embrionário normal, isso porque a técnica correta evita o dano de organelas e membranas, evitando interferências na capacitação e maturação espermática, assim como na reação acrossomal.

No processo de criopreservação, a célula espermática passa por etapas como a glicolização, refrigeração, tempo de equilíbrio, congelação e descongelação, as quais podem causar danos aos espermatozoides (Zoca et al., 2021). Dentre as lesões causadas pelo processo de criopreservação, destacam-se alterações na membrana plasmática, acrossomal e motilidade reduzida (Carrer, 2022).

3.5 Sêmen bovino criopreservado

Os espermatozoides são gametas masculino do bovino composto principalmente por: cabeça, flagelo ou cauda, unidos pelo colo, o espermatozoide bovino contém a membrana plasmática que cobre toda a célula (Oura; Toshimori, 1990; Eddy; O'brien, 1994; Mortimer, 1997).

A qualidade do sêmen depende da integridade e função de todas as estruturas que compõem a célula espermática, tais como membrana plasmática, flagelo, mitocôndrias, acrossomo e cromatina, as quais são geralmente avaliadas por técnicas separadas, que nem sempre correspondem à capacidade fecundante do espermatozoide (Celeghini et al., 2017).

Sendo constituído por 10% de espermatozoides, o sêmen de uma coleta de ejaculação de touro pode ter ainda líquido do canal deferente, por volta de 6% de líquido das vesículas seminais, 30% de líquido próstatico e uma pouca quantidade de líquido das glândulas bulbouretais (Guyton e Hall, 2002).

Segundo Reece (2014), plasma seminal possui boas condições de sobrevivência aos espermatozoides, pois sua composição é de íons, lipídeos, proteínas, açúcares, prostaglandinas, citrato, potássio, aminoácidos, fosfatases, minerais e ácido cítrico. A frutose, arabinose, fucose, manose, glicose, ribose, inositol e sorbitol são tipos de açúcares que fornecem substratos para a produção de energia aos espermatozoides, tendo relação direta com a fertilidade (Assumpção et al., 2013).

Ao ocorrer o descongelamento do sêmen, como uma forma de avaliação da viabilidade e fertilidade seminal, é avaliada a taxa de espermatozoides móveis. Já para o sucesso

da reprodução como critério de avaliação são observados a duração da motilidade espermática, que é inferior a um minuto, porém, importante para a fertilização (Celeghini et al., 2017).

A qualidade do sêmen sofre variações ao longo da vida reprodutiva do touro e até mesmo os considerados férteis podem produzir alguns ejaculados com inadequada capacidade fecundante, que pode ser relacionada não somente à idade ou ambiente em que vivem (Vaz, 2022). Segundo Sellem et al., (2015) a fertilidade do touro deve ser monitorada por análise laboratorial periódica a partir da qualidade do sêmen e através de registros de taxa de concepção em programas reprodutivos.

Segundo Queiroz et al., (2015) fatores relacionados ao ambiente, nutrição, raça e idade do touro pode influenciar na qualidade do ejaculado. A maturidade sexual é um fator impactante neste aspecto, isso porque entre 30 e 36 meses de idade nos *Bos taurus indicus* atinge a sua maturidade sexual, entre 16 e 20 meses nos *Bos taurus taurus*, sendo este último mais precoce.

3.6 Goma bruja de cajá

O cajá é um fruto cultivado em quase todo o Brasil, desde os tempos coloniais (Barbosa et al., 1981; Bosco et al., 2000). O fruto é extremamente aromático e rico em carotenoides, que dão à sua polpa uma intensa coloração amarela. Junto aos carotenoides, o cajá possui um elevado teor de taninos, que faz com que a polpa do fruto ganhe destaque como provável antioxidante natural, com atividades antioxidantes de 9397,3 g.g-1 pelo método de DPPH, (7,8 $\mu\text{mol Trolox.g-1}$) por ABTS, (11,8 $\mu\text{mol Fe}_2\text{SO}_4.\text{g-1}$) por FRAP, e (inibição da oxidação em 92,7%) pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico (Rufino, 2008). Um rendimento considerável da polpa e valores razoáveis de açúcares, acidez, fibras, vitamina C e minerais, demonstrando ser uma alternativa para o mercado de frutas ao natural, bem como para a agroindústria (Santos et al., 2010).

Assim como o fruto, polpa e subprodutos, as gomas têm sido utilizadas na indústria farmacêutica devido as características físico-químicas e funcionais com capacidade de melhorar a atividade celular.

As gomas são moléculas hidrofílicas ou hidrofóbicas de alta massa molar (polímeros de cadeia longa) que possuem propriedades coloidais (Whistler, 1973; Food Ingredients Brasil, 2011). As gomas são hidrocolóides produto vegetal natural que podem ser classificados como polissacarídeos aniônicos, não iônicos ou como sal de polissacarídeos. São substâncias

translúcidas e amorfas, frequentemente, obtidas de exsudatos de árvore, de sementes, de algas ou por fermentação microbiana (Food Ingredients Brasil, 2011).

As Gomas naturais sofrem hidratação em água fria ou quente, formando dispersões coloidais, soluções altamente viscosas ou até mesmo géis. Suas impurezas mais frequentes são os sais inorgânicos e outras substâncias de baixa massa molar, além de proteínas, ligninas e ácidos nucléicos (Costa et al., 1996). Apresentam também propriedades secundárias, tais como estabilização de emulsões, suspensão de partículas, controle de cristalização, inibição de sinérese, encapsulação e formação de filmes (Food Ingredients Brasil, 2011).

Quimicamente as gomas são caracterizadas por apresentarem sempre ácidos urônicos, além de açúcares comuns, monossacarídeos, motivo pelo qual são classificadas como heteropolissacarídeos (Poser, 2007).

As propriedades funcionais das gomas são afetadas pelo tamanho e orientação molecular, ligações iônicas e de hidrogênio, tamanho da partícula, temperatura, concentração dentre outros fatores. A distribuição espacial dos monômeros formadores e a presença ou não de ramificações são muito importantes (Food Ingredients Brasil, 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Comitê de ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís - MA, sob processo nº 23115.026162/2023-81.

4.2 Obtenção da goma bruta de cajá

A goma bruta de cajá foi coletada de exsudatos naturais do cajazeiro. No estágio de isolamento, como sugerido por Rodrigues et al (1993), a goma bruta foi separada da maior parte das suas impurezas e seus constituintes ácidos neutralizados.

A primeira purificação teve como finalidade a substituição dos cátions presentes na goma (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+}) por Na^+ , por meio da adição de excesso de cloreto de sódio, além de retirar as impurezas ainda presentes. Nesse estágio, foram dissolvidos 4 g da goma isolada em 100 mL de H_2O , na presença de 5g de NaCl, respeitando as seguintes etapas: filtração, precipitação, nova filtração e lavagem do precipitado.

O excesso de NaCl que foi precipitado com a goma na primeira purificação foi eliminado na segunda purificação. Para realizar essa segunda purificação, cada alíquota de 3 g foi dissolvida em 100mL de H_2O e submetida às mesmas etapas citadas na primeira purificação. Para garantir a goma totalmente na forma de sal de Na, foi feita uma eluição em uma coluna de troca iônica tipo amberlite IR- 120H+. A troca dos íons H^+ por Na^+ da coluna foi previamente feita pela eluição de uma solução de NaCl. A solução de goma na forma de sal, oriunda da coluna, foi liofilizada em três alíquotas de 200 mL em um liofilizador modelo L4KR, Edwards de alto vácuo. O material oriundo de cada liofilização foi misturado aos demais para homogeneização.

4.3 Animais

As coletas de sêmen foram realizadas nas Fazenda Nova, Fazenda Carnaubinha, e na Unidade de Produção de Leite da Universidade Federal do Maranhão, no município de Chapadinha. A coleta e congelamento do sêmen foram realizados a campo em outubro/2023, e

a análise das amostras posteriormente no Laboratório de Fisiologia e Reprodução Animal da Universidade Federal de Maranhão.

Foram utilizados sete reprodutores da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) e Senepol (*Bos taurus taurus*) com idade média de 48 meses e peso vivo médio de 650kg, que se encontravam em repouso sexual, selecionados de acordo com avaliação clínica, avaliação termográfica do animal e do testicular, e avaliação espermática (CBRA, 2013). Foram coletados três ejaculados de cada reprodutor. Os animais foram mantidos em pasto de com *Panicum maximum* - Massai, com mistura mineral comercial e água ad libitum, apresentavam boa condição corporal (escore 3,5 na escala de 1-5).

4.4 Conjunto e avaliações de imagem termográficas

Foram obtidas um total de 12 imagens por animal, 6 imagens corporais e 6 da região dos testículos, uma vez por semana, no turno da manhã, em três intervalos: antes, durante e após as coletas de sêmen. As imagens termográficas serão capturadas por uma câmera Fluke TiS10 (Fluke Systems®, Everett, WA, EUA). Todas as imagens foram adquiridas a uma distância de um metro dos animais. O ajuste do foco e a calibração dos parâmetros de temperatura e umidade relativa do local de coleta foram realizados automaticamente pelo equipamento, enquanto a emissividade será configurada para 0,98, valor recomendado para tecidos biológicos (SOERENSEN et al., 2014). As imagens foram obtidas com resolução de 4800 pixels e armazenadas no formato Fluke .is2. A análise das imagens termográficas foi conduzida utilizando o software SmartView Classic 4.4® (Fluke Corporation®, Everett, WA, EUA).

4.5 Coleta e avaliação do sêmen pré-congelamento.

A coleta do ejaculado foi realizada através do método de eletroejaculação, em tubo Falcon de 15ml, em seguida alíquotas foram retiradas para a realização dos exames imediatos e mediatos no sêmen. Ejaculados com valores inferiores a 60% de motilidade e com porcentagem de patologia espermática total superiores a 30% foram descartados (CBRA, 2013).

No sêmen fresco foram avaliadas a motilidade, vigor, morfologia e concentração espermática. A motilidade e vigor espermáticos foram determinadas pela deposição de uma gota

de sêmen entre lâmina e lamínula, sob microscopia em magnificação de 400x com base na estimativa visual (CBRA, 2013).

A concentração espermática foi determinada pela contagem das células em câmara de Neubauer, após diluição (1:200) de uma alíquota de sêmen em formol salino. A morfologia espermática foi avaliada em preparações úmidas, entre lâmina e lamínula, em magnificação de 400x em microscopia de contraste de fase e classificados em defeitos menores, maiores e totais (CBRA, 2013).

4.6 Diluição e criopreservação do sêmen

Após avaliação da concentração da amostra seminal, cada ejaculado foi dividido em seis frações e diluído em extensor TRIS-gema (3,605 g de Tris, 2,024 g de ácido Cítrico, 1,488 g de frutose, 100 mL de água destilada, 20% de gema de ovo; 1000µg/mL diluidor de estreptomicina; 1000UI/mL diluidor de penicilina para cada 100mL de diluidor), controle: Tris-Gema 6% glicerol; T1: Tris-Gema 3% glicerol; T2: Tris-Gema 0% glicerol; T3: Tris-Gema 1,5% goma bruta de cajá; T4: Tris-Gema 0,5% goma bruta de cajá; T5: Tris-Gema 5,5% glicerol + 0,5% goma bruta de cajá;

Após a adição dos tratamentos, o sêmen foi envasado em palhetas de 0,25mL, sendo a concentração final fixada em 40 milhões de espermatozoides viáveis por palheta. Em seguida as palhetas foram levadas a máquina de congelamento utilizando a curva lenta de congelamento (0,25°C/min, de 25°C a 5°C, e a -12,5°C/min, de 5°C a -120°C), com tempo de estabilização de 4horas a 5°C. Imediatamente após a congelação, as palhetas foram transferidas para o nitrogênio líquido e armazenadas em botijão criogênico (-196°C).

4.7 Teste in vitro do sêmen pós-descongelção

O descongelamento do sêmen foi realizado em banho Maria a 37°C por 30 segundos, e avaliado quanto ao teste de termorresistência rápido e morfologia espermática

4.8 Teste de Termorresistência Rápido (TTR)

O teste de termorresistência foi realizado de acordo, que consisti em verificar a longevidade das amostras de sêmen descongeladas. Uma alíquota de 100µl de sêmen

descongelado foi incubada a 46 ° C em banho-Maria, e avaliada quanto à motilidade total e o vigor espermático por meio de microscopia de campo claro, e aumento de 400x, nos tempos 0, 15, 30, e 45 minutos.

4.9 Avaliação morfológica

A morfologia foi estimada em cada amostra de sêmen descongelado, pelo método de câmara úmida. Foram homogeneizados 5 µL de sêmen com 5 µL de rosa bengala (1:1 v/v), sobre lâmina e coberta com lamínula para avaliação de 200 espermatozoides por observação microscópica (1000x) com óleo de imersão, em campo claro. A porcentagem das diversas alterações morfológicas foi agrupada e classificada de acordo com BLOOM (1971).

4.10 Análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento de blocos casualizado. Para as análises in vitro das características espermáticas foi realizado o teste de variância (ANOVA). As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Duncan para termorresistência rápida e teste de Tukey, para morfologia espermática. Já para a avaliação dos parâmetros a fresco do sêmen e dos dados termográficos, foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, seguido do teste de Tukey. As variáveis que não apresentaram distribuição normal foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Os dados foram analisados com nível de significância de 5%, sendo utilizado o programa estatístico InfoStat versão 2008.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 1 - Média \pm erro padrão das temperaturas obtidas por termografia ($^{\circ}\text{C}$) do corpo do animal (TC) e do testículo (TT) antes, durante e pós coleta de sêmen, e características macroscópica e microscópica do ejaculado de cada touro

VARIÁVEIS							
*TOUROS	TEMP. CORPORAL			TEMP. TESTICULAR			ITGU
	PRÉ-COLETA	COLETA	PÓS-COLETA	PRÉ-COLETA	COLETA	PÓS-COLETA	
1	35,40 \pm 0,40 ^{AB}	35,47 \pm 0,71 ^{AB}	34,50 \pm 0,70	34,67 \pm 0,52	34,50 \pm 0,64 ^{AB}	34,83 \pm 0,41	78,25 \pm 0,88
2	35,37 \pm 1,27 ^A	36,05 \pm 0,76 ^{AB}	35,73 \pm 0,81	34,17 \pm 0,93	35,32 \pm 0,64 ^A	33,57 \pm 0,41	78,98 \pm 1,60
3	34,53 \pm 0,97 ^{ABC}	36,07 \pm 0,72 ^{AB}	36,33 \pm 1,28	33,33 \pm 0,27	35,03 \pm 0,64 ^{AB}	34,57 \pm 0,41	78,43 \pm 1,05
4	32,03 \pm 0,41 ^{BC}	34,23 \pm 0,94 ^B	37,47 \pm 0,78	33,27 \pm 0,20	34,60 \pm 0,64 ^{AB}	34,77 \pm 0,41	79,98 \pm 3,07
5	31,20 \pm 1,25 ^C	33,23 \pm 1,51 ^B	33,43 \pm 1,49	32,73 \pm 1,19	32,03 \pm 0,64 ^C	31,93 \pm 0,41	79,05 \pm 1,66
6	34,40 \pm 0,15 ^{ABC}	34,20 \pm 0,81 ^B	34,97 \pm 0,27	33,83 \pm 0,44	33,00 \pm 0,64 ^{BC}	33,40 \pm 0,41	78,43 \pm 1,05
7	34,18 \pm 0,94 ^{ABC}	38,14 \pm 1,06 ^A	35,87 \pm 0,41	34,67 \pm 0,46	36,21 \pm 0,64 ^A	35,00 \pm 0,41	83,64 \pm 0,95
VARIÁVEIS							
	TEMP. CORPORAL			TEMP. TESTICULAR			
	PRÉ-COLETA	COLETA	PÓS-COLETA	PRÉ-COLETA	COLETA	PÓS-COLETA	
MÉDIA	34,11 \pm 0,77 ^B	35,58 \pm 0,93 ^A	35,47 \pm 0,82 ^A	33,81 \pm 0,57	34,38 \pm 0,64	34,01 \pm 0,41	
*VARIÁVEIS	VOLUME	MOT. (%)	VIGOR	DEFEITOS MAIORES (%)	REATIVIDADE		
1	7,00 \pm 0,99	90,0 \pm 1,26 ^A	3,5 \pm 0,22	6,00 \pm 1,50 ^B	Negativo		
2	6,33 \pm 0,99	90,0 \pm 1,26 ^A	3,5 \pm 0,22	3,00 \pm 0,27 ^C	Negativo		
3	5,67 \pm 0,99	90,0 \pm 1,26 ^A	3,5 \pm 0,22	7,00 \pm 0,50 ^B	Negativo		
4	5,33 \pm 0,99	86,67 \pm 1,26 ^A	3,5 \pm 0,22	10,00 \pm 2,25 ^B	Positivo		
5	5,00 \pm 0,99	85,00 \pm 1,26 ^{AB}	3,5 \pm 0,22	23,00 \pm 4,33 ^A	Negativo		
6	5,00 \pm 0,99	85,00 \pm 1,26 ^{AB}	3,5 \pm 0,22	8,00 \pm 2,00 ^B	Negativo		
7	4,00 \pm 0,99	80,00 \pm 1,26 ^B	3,5 \pm 0,22	10,00 \pm 2,17 ^B	Positivo		

* A diferença entre as letras será observada na mesma coluna. A diferença entre as letras será observada na mesma linha. Letras iguais não diferem entre si. Legenda: Touro 1 – SG; Touro 2 – SF; Touro 3 – SP; Touro 4 – MX; Touro 5 – PL; Touro 6 – PR; Touro 7 – MXÃ.

Fonte: Próprio autor (2023).

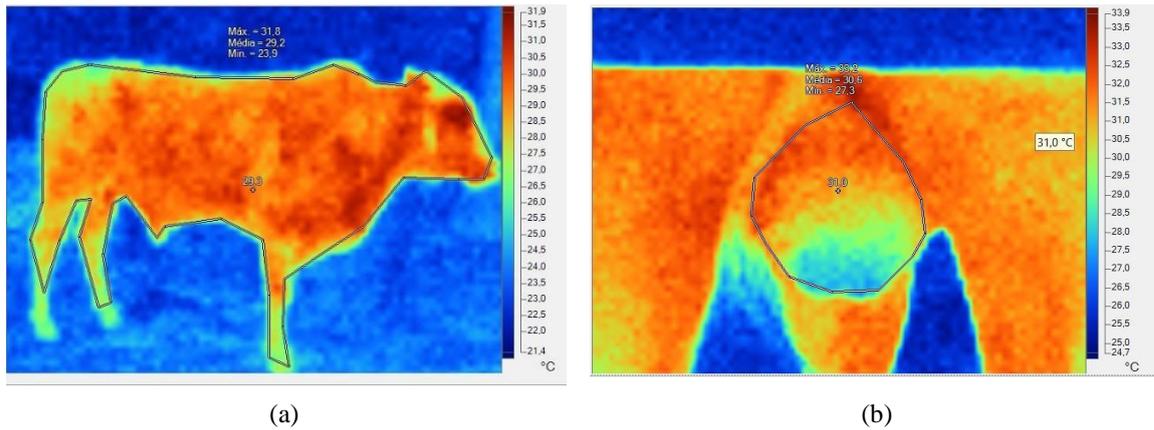


Figura 1 - (a) Temperatura corporal animal e (b) temperatura testicular animal antes do procedimento. Próprio autor (2023).

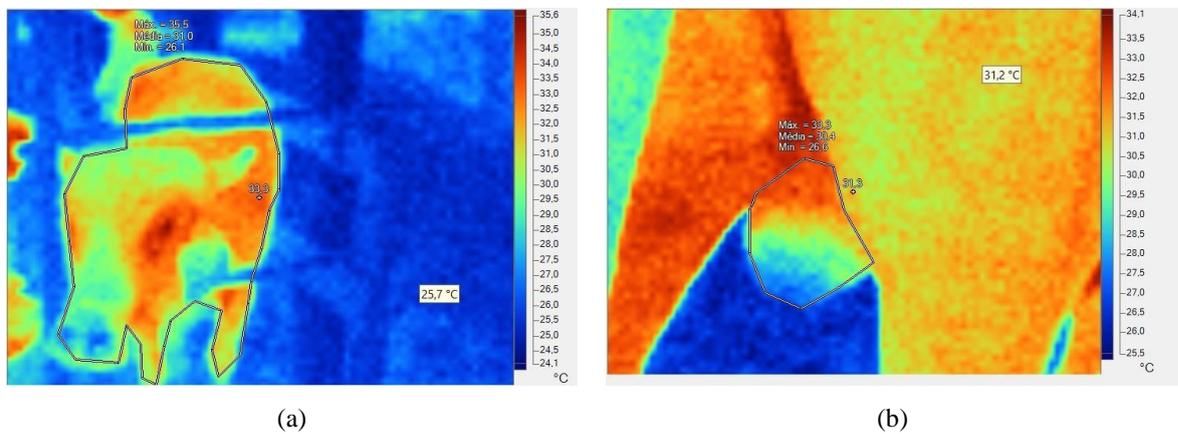


Figura 2 - (a) Temperatura corporal animal e (b) temperatura testicular animal durante o procedimento..Próprio autor (2023).

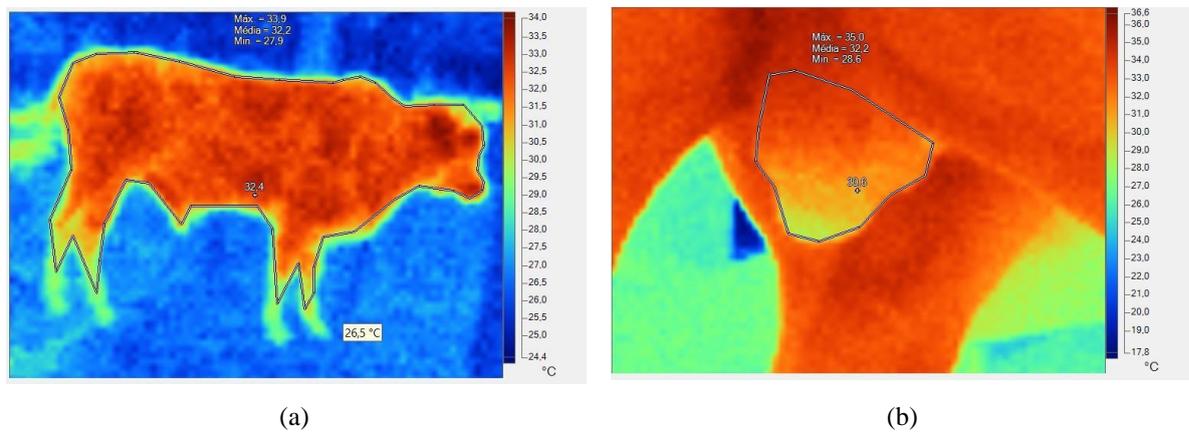


Figura 3 - (a) Temperatura corporal animal e (b) temperatura testicular animal depois do procedimento.. Próprio autor (2023).

Foi observado que para temperatura corporal entre os animais, o animal 1 apresentou a maior temperatura antes da coleta, não diferindo dos animais 2, 3 e 7. O animal 5 apresentou a menor temperatura. Para temperatura corporal durante a coleta, os animais 2 e 7 apresentaram maior temperatura, diferindo dos animais 5 e 6. A temperatura corporal nos animais 5 e 6 não alterou pela coleta, apresentando-se inferior em relação aos demais animais. Para temperatura corporal pós-coleta não houve alteração significativa entre os animais.

Para temperatura testicular não foi observada diferença significativa entre os touros, antes e após a coleta. Mas durante a coleta os animais que apresentaram maior temperatura foram ASSUMPCÃO os animais 2 e 7, e menor temperatura testicular o animal 5 (Tabela 1).

A avaliação das temperaturas observadas entre os intervalos de coleta, foi demonstrado que a temperatura corporal foi menor no intervalo pré-coleta. Para temperatura testicular não foi observado diferença estatística.

Para aos aspectos de sêmen não foi observado diferença estatística para volume e vigor entre os touros, mas foi observado que par motilidade os touros 1, 2, 3 e 4 tiveram maiores médias que o animal 7. Para defeitos maiores o animal 5 apresentou maiores médias, diferindo dos animais 1, 3, 4, 6, e 7. O animal 2 para este parâmetro apresentou menores médias. Somente o animal 5 apresentou médias superiores aos 10% preconizados pelo manual do CBRA. Os animais 4 e 7 foram positivos para reatividade.

A adequação do ambiente de coleta de sêmen, manejo e reatividade dos animais influenciam nos resultados termográficos (AGUILAR, 2007; NOGUEIRA et al., 2013). No presente trabalho a relação das alterações observadas nas temperaturas corporal e testicular, na motilidade espermática, e classificação de reatividade animal, indica que os parâmetros isolados não explicam o efeito das variações na qualidade seminal, mas a avaliação dos parâmetros em conjunto, demonstra que animais reativos apresentam maior desconforto no manejo pré-coleta, em consequência há aumento da temperatura corporal antes e durante a coleta, o que resulta na elevação da temperatura testicular, e reduz motilidade espermática.

As termografias infravermelhas foram realizadas em três momentos para cada animal no intervalo de 21 dias (Figura 1, 2 e 3). Mesmo sendo este período menor que o da espermatogênese (60 dias em média), utilizou-se a termografia para medir com precisão a temperatura testicular nos intervalos antes, durante e pós coleta de sêmen.

Segundo Brito et al. (2004) a espermatogênese e androgênese são afetados quando a temperatura testicular tem variações em torno de 3 a 6°C abaixo da temperatura corporal. Além disso o uso da termografia pode ser útil como teste complementar para a avaliação andrológica de touros (FRACARO et al., 2016).

Tabela 2 - Média e erro-padrão do percentual de Motilidade Total (MT) e Vigor, do sêmen criopreservado de bovinos, avaliados pelo teste de termorresistência rápido (TTR)

MOTILIDADE(%)	TRATAMENTOS					
	Controle	T1	T2	T3	T4	T5
	(6% G)	(3% G)	(0% G)	(0,5% GC)	(1,5% GC)	(5,5% G + 0,5% GC)
0min	31,86 ± 2,65 ^A	26,86 ± 2,65 ^{AB}	17,71 ± 2,65 ^{CD}	11,29 ± 2,65 ^D	12,29 ± 2,65 ^D	22,00 ± 2,65 ^{BC}
15min	22,57 ± 2,18 ^A	17,71 ± 2,18 ^{AB}	7,86 ± 2,18 ^C	4,14 ± 2,18 ^C	4,71 ± 2,18 ^C	15,71 ± 2,18 ^B
30min	14,00 ± 1,82 ^A	13,43 ± 1,82 ^A	4,57 ± 1,82 ^{BC}	2,86 ± 1,82 ^C	4,00 ± 1,82 ^C	9,71 ± 1,82 ^{AB}
45min	3,88 ± 1,51	2,47 ± 1,02	0,71 ± 0,71	0,00 ± 0,00	1,19 ± 0,79	3,10 ± 1,38
VIGOR(1-5)						
0min	2,57 ± 0,22 ^A	1,86 ± 0,22 ^B	1,57 ± 0,22 ^{BC}	1,00 ± 0,22 ^C	1,57 ± 0,22 ^{BC}	1,86 ± 0,22 ^B
15min	2,00 ± 0,26 ^A	1,43 ± 0,26 ^{A B}	1,00 ± 0,26 ^{BC}	0,29 ± 0,26 ^C	0,43 ± 0,26 ^C	1,43 ± 0,26 ^{AB}
30min	1,43 ± 0,20 ^A	1,00 ± 0,20 ^{AB}	0,71 ± 0,20 ^{BC}	0,29 ± 0,20 ^C	0,29 ± 0,20 ^C	0,86 ± 0,20 ^{ABC}
45min	0,33 ± 0,17	0,16 ± 0,06	0,07 ± 0,07	0,00 ± 0,00	0,13 ± 0,08	0,40 ± 0,18

Letras iguais não diferem entre si. Legenda: TTR = Teste de Termo Resistência, Controle = (Tris-gema + 6% de glicerol), T1 = (Tris-gema + 3% de glicerol), T2 = (Tris-gema + 0% de glicerol), T3 = (Tris-gema + 0,5% de goma de cajá), T4 = (Tris-gema + 1,5% de goma de cajá), T5 = (Tris-gema + 5,5% de glicerol + 0,5% de goma de cajá).

Fonte: Próprio autor (2023).

A motilidade total foi superior no controle, T1 e T5, em relação aos T2, T4 e T3, ao tempo zero de incubação, e manteve a ordem de superioridade em relação aos tempos 15 e 30 minutos. No tempo de 45 min de incubação não houve diferença estatística entre os tratamentos. Para vigor espermático o controle foi superior aos demais tratamentos experimentais (tabela 1).

A adição da goma de cajá no meio extensor do sêmen criopreservado não influenciou ($P > 0,05$) na motilidade total e vigor em comparação ao grupo controle (6% de glicerol). Os tratamentos com adição de goma de cajá apresentaram valores de motilidade e vigor abaixo do preconizado pelo manual do colégio brasileiro de reprodução animal (CBRA), que determina o mínimo de 30% de motilidade e 3 de vigor para sêmen bovino criopreservado.

A ação dos crioprotetores são necessários para a criopreservação seminal (FAHY, 1986). Devido a capacidade de manter a osmolaridade e tamponar o meio, e ser fonte de lipoproteína de alto peso molecular, que confere proteção contra o choque térmico induzido pelas baixas temperaturas do processo de criopreservação (VISHWANATH; SHANNON, 2000).

O glicerol age penetrando à célula e exerce efeitos extra e intracelulares, que potencializa a desidratação osmótica celular e redução do volume e do estresse osmótico intracelular decorrente da desidratação (VISHWANATH; SHANNON, 2000; MEDEIROS, et al., 2002). Assim como as enzimas com atividade antioxidante podem atuar na criopreservação com efeito crioprotetora, a goma de cajá devido as suas características antioxidativas é atribuída potencial protetor as biomoléculas, com ação na inibição ou redução da oxidação celular através da prevenção do desencadeamento das reações oxidativas (KAUR e KAPOOR, 2001). Contudo neste trabalho não foi verificado o efeito crioprotetor da goma de cajá sobre a cinética espermática, pois os tratamentos contendo goma de cajá, na ausência de glicerol tiveram os resultados inferiores quanto a motilidade e vigor.

Estes resultados têm relação com o pH ácido da goma de cajá que varia de 2,86 a 3,17, Rodrigues et al (2012), provocando desestabilização no pH básico (pH 7,4) do diluidor seminal.

Tabela 3 - Média e erro-padrão do percentual de morfologia espermático em sêmen criopreservado de bovinos

MORFOLOGIA(%)	TRATAMENTOS					
	Controle	T1	T2	T3	T4	T5
	(6% G)	(3% G)	(0% G)	(0,5% GC)	(1,5% GC)	(5,5% G + 0,5% GC)
Esp. Normais	60,00 ± 2,76 ^B	67,57 ± 2,76 ^{AB}	71,86 ± 2,76 ^A	63,86 ± 2,76 ^{AB}	70,43 ± 2,76 ^A	68,43 ± 2,76 ^{AB}
Defeitos de cabeça	2,63 ± 0,73	0,43 ± 0,43	3,43 ± 1,23	3,49 ± 1,27	1,62 ± 0,55	2,90 ± 0,82
Defeitos de PI	3,12 ± 0,73	0,43 ± 0,30	0,57 ± 0,30	0,27 ± 0,27	0,49 ± 0,30	0,83 ± 0,54
Defeitos de cauda	37,00 ± 2,66 ^A	29,57 ± 2,66 ^{AB}	23,00 ± 2,66 ^B	23,71 ± 2,66 ^B	28,14 ± 2,66 ^B	28,71 ± 2,66 ^B
Defeitos maiores	15,65 ± 6,68	14,60 ± 4,78	12,76 ± 5,11	12,17 ± 5,66	8,98 ± 3,28	15,96 ± 4,11
Defeitos menores	21,78 ± 5,55	16,60 ± 1,99	12,10 ± 2,16	17,07 ± 4,56	23,14 ± 4,42	21,06 ± 2,92
Defeitos totais	41,00 ± 2,93 ^A	31,57 ± 2,93 ^B	25,00 ± 2,93 ^B	28,29 ± 2,93 ^B	29,43 ± 2,93 ^B	32,14 ± 2,93 ^B

A diferença entre as letras será observadas na mesma linha. Letras iguais não diferem entre si. Legenda:, Controle = (Tris-gema + 6% de glicerol), T1 = (Tris-gema + 3% de glicerol), T2 = (Tris-gema + 0% de glicerol), T3 = (Tris-gema + 0,5% de goma de cajá), T4 = (Tris-gema + 1,5% de goma de cajá), T5 = (Tris-gema + 5,5% de glicerol + 0,5% de goma de cajá).

Fonte: Próprio autor (2023).

A média do percentual de espermatozoides normais foi superior nos T2 e T4, 30 em relação ao controle, mas demonstrou significativamente ser iguais aos T1, T3 e T5.

Os espermatozoides normais observados no T2 e T4, foram superiores a 70%, correspondendo aos valores preconizados pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal

Os defeitos de caudas foram inferiores nos T2, T3, T4, e T5 e maiores no grupo controle. Para defeitos totais os tratamentos apresentaram médias inferiores quando comparados ao controle (Tabela 3).

Não houve diferença estatística entre os tratamentos e o controle, para defeitos de cabeça, defeitos de peça intermediária, defeitos maiores e defeitos menores, contudo pode-se observar que o T4 para defeitos maiores apresentou média 8,98, inferior a 10%, valor determinado pelo CBRA.

Os defeitos de cauda observado em animal adulto tem como causas provável o estresse térmico e distúrbio do epitélio epididimal (MARTINS et al., 2016). No presente trabalho a variação observada para defeitos de cauda em sêmen criopreservado demonstram que a utilização da goma de cajá nas diferentes concentrações em estudo foi capaz de preservar a morfologia espermática reduzindo o percentual de espermatozoides com cauda defeituosa.

O defeito de cauda dobrada ou enrolada, que foram os mais observados neste trabalho, podem ter como causa provável a queda brusca de temperatura, ou choque térmico (CBRA, 2013). A goma de cajá é solúvel em água, atua como agentes gelificantes, espessantes, estabilizadores, e agentes de revestimento, justificando a preservação da morfologia espermática (KOOCHKEI et al., 2009; MIRHOSSEINI; TAN, 2010). Também foi observado que os tratamentos com 0% de glicerol e 1,5% de goma de cajá tiveram maiores média de espermatozoides normais. Este resultado pode justificar o efeito tóxico do glicerol sobre o espermatozoide a partir dos dados de morfologia espermática. A substituição do glicerol por crioprotetor de menor toxicidade aumenta a sobrevivência dos espermatozoides sem reduzir sua capacidade fecundante após a descongelação (LEITE et al., 2011).

6 CONCLUSÃO

Foi demonstrado que a qualidade do sêmen fresco foi maior nos animais menos reativos. Os parâmetros bioclimáticos afetam mais amplamente a temperatura testicular e a qualidade de sêmen durante a coleta. A adição da goma de cajá ao diluidor seminal preservou a morfologia espermática.

AGUILAR, N.M.A. Avaliação da reatividade de bovinos de corte e sua relação com caracteres reprodutivos e produtivos, **Dissertação (mestrado)** - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007.

ALVARENGA, M. A. et al. Amides as cryoprotectant for freezing stallion semen: a review. **Animal Reproduction Science**, v.89, p.105-113, 2005.

AMANN, R. P.; PICKETT, B. W. Principle of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. **Journal Equine Veterinary Science**, v.7, n.3, p.145-173, 1987.

ASSUMPCÃO, T. I. de; YONEYAMA, K. A. G.; PALLAORO, R.; KITAGAWA, C; ALBERTON, C. Perfil de Proteínas e Açúcares do Plasma Seminal e sua Relação com os Parâmetros Andrológicos de Touros da Raça Nelore. **Bioscience Journal**, Uberlândia-MG, v. 29, n. 4, p. 940-945, jul./ago. 2013.

BARBOSA, W. C. et al. Estudo bromatológico e tecnológico da graviola e do taperebá. Belém: **Embrapa**, 1981. 15 p. Boletim de pesquisa, n. 32.

BARUSELLI, P. S. et al. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. **Animal Reproduction (AR)**, v. 14, n. 3, p. 558-571. 2018.

BERTOL, M. A. F.; WEISS, R. R.; FUJITA, A. S.; KOZICKI, L. E.; ABREU, A. C. M. R. de; PEREIRA, J. F. S. Dois diluentes comerciais na criopreservação de espermatozoides do epidídimo de touros. *Ciência Rural*, Santa Maria-RS, v.44, n.9, p.1658-1663, set. 2014.

BONI R. Coleta de óvulos em bovinos: uma análise retrospectiva de 25 anos. **Anima. Reprodução**. 9(3):362-369. 2012

BOSCO, J. et al. A cultura da cajazeira. João Pessoa: **EMEPA-PB Documentos**, 28. 2000. 29 p.

BOOCKFOR, F.R.; BARNES, M.A.; DICKEY, J.F. Effects of unilateral castration and unilateral cryptorchidism of the Holstein bull on in vitro Leydig cell response. **Journal of Animal Science**, v.56, p.1386-1392, 1983

BRITO, L. F. C., SILVA, A. E. D., BARBOSA, R. T. & KASTELIC, J. P. (2004). 33
Testicular
thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal,
testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm
production. **Theriogenology**, 61(2-3), 511-528.

CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Colégio Brasileiro
de Reprodução Animal. 2. ed., CBRA, Belo Horizonte: CBRA, 2013. 31

CARRER, A. R. Criopreservação de sêmen bovino com dois diluentes comerciais
suplementados com astaxantina. 2022. 60p. **Dissertação (mestrado)** – Universidade Estadual
Paulista (Unesp). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal.

CELEGHINI, E. C. C. et al. Impacto da qualidade do sêmen sobre a fertilidade a campo em
bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 40-45, 2017.

CHACUR, M. G. M., SOUZA, C. D., ANDRADE, I. B., PEPINO, G., BASTOS, F. L. G. D.,
SOUZA, M. G. R., & MARQUES, A. D. P., Jr. (2016). Aplicações da termografia por
infravermelho na reprodução animal e bem-estar em animais domésticos e silvestres. **Revista
Brasileira de Reprodução Animal**, 40(3), 88-94.

COSTA, S.M.O. et al Monitorização do Processo de Purificação de Gomas Naturais: Goma
do Cajueiro. **Polímeros: Ciência e Tecnologia** - Abr/Jun – 1996.

CURTIS, S.K.; AMANN, R.P. Testicular development and establishment of spermatogenesis
in Holstein bulls. **Journal of Animal Science**, v.53, n.6, p.1645-1657, 1981.

DANTAS, M.R.T. et al. Termorregulação de bovinos em ambiente tropical: uma abordagem
com ênfase nas respostas fisiológicas. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 7, Ed. 194, Art. 1306,
2012.

EDDY, E. M.; O'BRIEN, D. A. THE SPERMATOZOON. In: KNOBIL., E.; NEIL., J. D.
The physiology of reproduction. Cap. 2, p. 29-77. New York: Raven Press. 1994.

FAHY, G. M. The relevance of cryoprotectant "toxicity" to cryobiology. **Cryobiology**, v. 23,
n. 1, p. 1-13, 1986.

FELIPPELLI, G. et al. Viability of *Toxoplasma gondii* in cattle semen cryopreserved with
different concentrations of cryoprotectant.2023. **Pesquisa Veterinária Brasileira**,v. 43,
<https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-7106>

FERREIRA F. et al. 2006. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5,p.732-738. 34

FINCH V. A. et al. 1984. Coat color in cattle: effect of thermal balance, behaviour and growth and relationship with coat type. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 102 p. 141-147.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Dossiê das gomas. **Revista- fi.com**. n.17,p. 26-46 2011.

FRACARO, P. L. Glicerol na criopreservação de sêmen de garanhões. **Dissertação (Mestrado)** – Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. 2022, 28 f.

GRAHAM J. K. Avaliação de crioprotetores alternativos para preservação de espermatozoides de garanhões . **Anais do 14º Congresso Internacional sobre Reprodução Animal e Inseminação Artificial**, Estocolmo, p. 307. 1995.

GRIFFIN, J.E. Male reproductive function. In: GRIFFIN, J.E.; OJEDA, S.R (Eds.). **Textbook of endocrine physiology**. New York: Oxford University Press, 1988. p.165-185

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Funções Reprodutoras e Hormonais Masculinas (e Função da Glândula Pineal). In: Tratado de Fisiologia Médica. 10ª ed. Rio de Janeiro – RJ: Guanabara Koogan. 2002. Cap. 80, pg. 857-868.

HAMMERSTED, R.H.; GRAHAM, J.K. Cryopreservation of poultry sperm: the enigma of glycerol. **Cryobiology**, v. 29, n. 1, p. 26 - 38, 1992.

FUJITA, A. S.; WEISS, R. R.; ROSSI JUNIOR, P.; KOZICKI, L. E.; GRESELLE, F. V. N.; BERTOL, M. A. F. Taxa de Gestação em Novilhas Nelore Sincronizadas para IATF e Inseminadas com Sêmen Resfriado e Congelado. **Arquivo Veterinary Science**, Curitiba-PR, v.18, n.3, p.13-21, jul/set. 2013.

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. **Food Science and Technology**. vol.36, p. 703-725, 2001.

LEITE, T. G.; MARTINS, J. A. M. Avaliação da Integridade de Membrana em Espermatozoide Bovino Criopreservado para Prever o Índice de Prenhez. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia-GO, v.12, n.3, p. 536-546, jul./set. 2011.

LOOMIS, P. R. **Factors affecting the success of artificial insemination with cooled, transported semen.** In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS ANNUAL CONVENTION, 38Th. Proceedings. 629-47. 1992. 35

MADEIRA, E.M.; BIANCHI, I.; VIEIRA, M.B.; SCHNEIDER, A.; SEVERO, N.C.; PFEIFER, L.F.M.; CORRÊA, M.N. Avaliação de diferentes crioprotetores intra e extracelulares na criopreservação de sêmen de touros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte-MG, v.65, n.2, p.415-420, abr. 2013.

MARIA, A.N. Diluidores e crioprotetores no resfriamento e congelamento do sêmen de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). **Dissertação (Mestrado)** – UFLA. 2005. 71 p.

MARTINS, C.F.; DODE, M. A. N.; SILVA, A.E.D.F. **Atlas de morfologia espermática bovina** – Brasília, DF : Embrapa, 2016.

MEDEIROS C. M. O. et al. Current status of sperm cryopreservation: why isn't better? *Theriogenology* 2002. 57:327-34.

MIRHOSSEINI, H.; TAN, C. P. Discrimination of orange beverage emulsions with different formulations using multivariate analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 90, 2010.

MORTIMER, S. T. A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. **Human Reproduction Update**, v. 3, n. 5, p. 403-439, 1997.

MOURA, N. P. **Secagem por atomização de polpa de cajá (*Spondias mombin* L.): influência das variáveis do processo, avaliação sensorial e caracterização físico-química.** Recife. 2013.

NOGUEIRA, F. R. B., Souza, B. B., Carvalho, M. G. X., Garino, F. Jr., Marques A. V. M. S., & Leite, R. F. (2013). Termografia infravermelha: uma ferramenta para auxiliar no diagnóstico e prognóstico de mastite em ovelha. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 35(3), 289-297.

OLIVEIRA, S. N. Efeito de glicerol e amidas em diferentes curvas de refrigeração sobre a qualidade do sêmen congelado aquino. **Tese (doutorado)** – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2020.

ÕURA, C.; TOSHIMORI, K. Ultrastructural studies on the fertilization of mammalian gametes. **International review of cytology**, v. 122, p. 105-151, 1990.

POLGE, C. et al. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. **Nature**, v. 164, p. 666. 1949.

36

POSER, G. L. V. Polissacarídeos. In: SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 ed. Porto Alegre: **Editora da UFRGS**; Florianópolis: **Editora da UFSC**. p.497-504. 2007.

QUEIROZ, V. L. D.; COSTA FILHO, L. C. C. da; ROSA, L. da S.; ZÚCCARI, C. E. S. N.; COSTA e SILVA, E. V. Sazonalidade na congelabilidade de sêmen bovino. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zootecia**. UNIPAR, Umuarama-PR, v.18, n.1, p. 39-47, jan./mar. 2015.

REECE, W. O. Reprodução de Machos. In: Anatomia Funcional e Fisiologia dos Animais Domésticos. 3ª ed. São Paulo: Roca, 2014, cap.13, p.358-380.

RODRIGUES, B. K. M. Liofilização de polpa de manga (*Mangifera indica* L.) c.v Tommy Atkins: condições de secagem e estabilidade. **Dissertação (mestrado)** – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2012. 142f.

RODRIGUES, L.F. et al. Polímeros: **Ciência e Tecnologia** - nº 1,31-36 .1993.

RUFINO, M. S. M. Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais. 237 f. **Tese (Doutorado em Agronomia)** - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2008.

SANTOS, M. B. et al. Characterization and quality of umbu-caja fruits (*Spondias tuberosa* X *S. mombin*) proceeding from the Southern Reconcavo in Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1089-1097. 2010.

SELLEM, E. et al. Use of combinations of in vitro quality assessments to predict fertility of bovine semen. **Theriogenology**, v. 84, p. 1447- 1454. 2015.

SHARPE, R.M. Regulation of espermatogenesis. In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. (Eds.). **The physiology of reproduction**. 2.ed. New York: Raven Press, 1994. v.1, p.1364-1434.

SHARPE, R.M.; McKINNELL, C.; KIVLIN, C. et al. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells and their relevance to disorders of testis function in adulthood. **Reproduction**, v.125, n.6, p.769-784, 2003.

SILVA, N.C. et al. Avaliação de dois diluentes e diferentes técnicas de criopreservação de sêmen bovino. **PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 19, Ed. 166, Art. 1122. 2011. 37

SOERENSEN, D.D., CLAUSEN, S., MERCER, J.B., PEDERSEN, L.J. Determining the emissivity of pig skin for accurate infrared thermography. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 109, n. C. p. 52-58, 2014.

UGUR M.R. et al. Advances in Cryopreservation of Bull Sperm. **Frontiers in Veterinary Science**. 6:268. 2019. Doi: 10.3389/fvets.2019.00268

VALVERDE, F. G. **Desenvolvimento de um crioprotetor contendo goma de ágar para a conservação de sêmen humano**. Aracajú, UNIT. 2016.

VAZ, F. E. M. **Avaliação de qualidade de sêmen congelado e uso de árvore de decisão para predição de fertilidade em iatf de vacas zebuínas**. 2022.

VISHWANATH R.; SHANNON P. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. **Animal Reproduction Science**. 2000. 62:23-53.

WHISTLER, R. L. Factors influencing gum costs and applications. In: WHISTLER, R. L.; MILLER, J. N. (eds.). **Industrial gums: polysaccharides and their derivatives**. 2nd ed. New York: **Academic Press**. p. 5-18. 1973.

ZERON, Y. et al. Kinetic and temporal factors influence chilling injury to germinal vesicle and mature oocytes. **Cryobiology**, v. 38, p. 35-42. 1999.

ZOCA, G. B.; CELEGHINI, E. C. C.; PUGLIESI, G.; CARVALHO, C. P. T.; ASSUMPÇÃO, M. E. O. D. A.; SIQUEIRA, A. F. P.; OLIVEIRA, L. Z.; LANÇONI, R.; ARRUDA, R. P. Influence of seminal plasma during different stages of bovine sperm cryopreservation. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 56(6), p. 872-883, 2021.