

## Avaliação dos parâmetros cinéticos de espermatozoides extraídos do epidídimo de macaco prego, *Sapajus libidinosus* (Spix, 1823), refrigerado por 48h

Gustavo de Oliveira Alves Pinto<sup>1\*</sup>, Giovanna Isabella de Souza Couto<sup>1</sup>, José Henrique Alves Nascimento e Silva<sup>1</sup>, Igor Soares Gouveia<sup>2</sup>, Marina Libonati de Azevedo<sup>2</sup>, Lúcia Cristina Pereira Arruda<sup>3</sup>, Maria Madalena Pessoa Guerra<sup>4</sup>, Gustavo Ferrer Carneiro<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária – UFRPE, Recife, PE, Brasil; <sup>2</sup> Médico Veterinário – UFRPE, Recife, PE, Brasil; <sup>3</sup>Doutora em Ciência Animal Tropical - UFRPE; <sup>4</sup> Professor adjunto do Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE, Brasil  
\*E-mail: carneirogustavo1@gmail.com

O macaco prego, *Sapajus libidinosus*, é um primata pertencente à família Cebidae e está amplamente distribuído pelo território nacional. Os machos dessa espécie atingem a maturidade sexual por volta dos 7 anos de idade. São animais que vivem em grupos, onde há uma hierarquia social, com um macho dominante, que apresenta níveis mais altos de testosterona em relação aos machos subordinados. No Brasil, cerca de 475 milhões de animais selvagens são atropelados por ano, portanto, a utilização da recuperação de gametas a partir do epidídimo pode ser empregado em espécies vítimas fatais de acidentes, por exemplo. Aprofundamento nos estudos são necessários, para avaliar a qualidade das amostras obtidas por essa técnica, ou se elas suportam o processo de criopreservação. Dessa forma, objetivou-se avaliar a cinética espermática de um *S. libidinosus*, submetido a orquiectomia eletiva no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A amostra foi obtida a partir dos epidídimos, que imediatamente após o procedimento, foram encaminhados para o Laboratório de Andrologia da UFRPE. O presente trabalho foi submetido ao SISGEN, sob número de cadastro A929F3E e SISBIO 349723. A técnica utilizada para a recuperação dos espermatozoides foi a de fatiamento do epidídimo, que posteriormente, foi mantido por 10 minutos em meio diluidor TRIS-gema de ovo. As amostras recuperadas, foram centrifugadas e ressuspensas para concentração de  $200 \times 10^6$  espermatozoides/ml em TRIS-gema de ovo e submetidas a refrigeração a 5°C por até 48h. Os parâmetros cinéticos foram avaliados, imediatamente após a coleta, após 24 e 48h de refrigeração, pelo sistema de análises computadorizadas da motilidade espermática (CASA<sup>®</sup>), onde foram considerados a motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %), linearidade (LIN, %), retilinearidade (STR, %), e índice de oscilação (WOB, %); velocidade curvilínea (VCL,  $\mu\text{m/s}$ ), velocidade em linha reta (VSL,  $\mu\text{m/s}$ ) e velocidade média da trajetória (VAP,  $\mu\text{m/s}$ ); deslocamento lateral da cabeça (ALH,  $\mu\text{m}$ ) e frequência de batimento cruzado (BCF; Hz). Os resultados obtidos foram os seguintes: Imediatamente após a recuperação: MT, %: 95,2; MP, %: 92,4; LIN, %: 80,9; STR, %: 90,8; WOB, %: 89,1; VCL,  $\mu\text{m/s}$ : 101,1; VSL,  $\mu\text{m/s}$ : 81,8; VAP,  $\mu\text{m/s}$ : 90,1; ALH,  $\mu\text{m}$ : 2; BCF; Hz: 8,2. Após 24 de refrigeração: MT, %: 47,6; MP, %: 42,4; LIN, %: 30,8; STR, %: 53,8; WOB, %: 57,3; VCL,  $\mu\text{m/s}$ : 84,4; VSL,  $\mu\text{m/s}$ : 26,0; VAP,  $\mu\text{m/s}$ : 48,4; ALH,  $\mu\text{m}$ : 3; BCF; Hz 6,1; e após 48h de refrigeração: MT, %: 49,6; MP, %: 37,7; LIN, %: 32,1; STR, %: 59,5; WOB, %: 54,0; VCL,  $\mu\text{m/s}$ : 70,8; VSL,  $\mu\text{m/s}$ : 22,7; VAP,  $\mu\text{m/s}$ : 38,2; ALH,  $\mu\text{m}$ : 3,3; BCF; Hz: 3,7. A partir dos resultados obtidos foi possível observar que a técnica de recuperação de espermatozoide do epidídimo possivelmente pode ser empregada em *S. libidinosus*, utilizando diluidor a base de tris-gema e servirá de base para avaliarmos um grupo maior de indivíduos em futuros experimentos. Além disso, o resfriamento da amostra, após recuperação, também demonstrou parâmetros favoráveis, com motilidade preservada em até 48 horas. Embora os resultados aqui demonstrados tenham indicado uma eficiência da metodologia empregada, maiores estudos serão necessários com um maior número de indivíduos com o intuito de comprovar esses resultados promissores.

**Palavras-chave** Conservação, Motilidade espermática, Tris-gema

## Evaluation of kinetic parameters of sperm extracted from the epididymis of a capuchin monkey, *Sapajus libidinosus* (Spix, 1823), refrigerated for 48h

Gustavo de Oliveira Alves Pinto<sup>1\*</sup>, Giovanna Isabella de Souza Couto<sup>1</sup>, José Henrique Alves Nascimento e Silva<sup>1</sup>, Igor Soares Gouveia<sup>2</sup>, Marina Libonati de Azevedo<sup>2</sup>, Lúcia Cristina Pereira Arruda<sup>3</sup>, Maria Madalena Pessoa Guerra<sup>4</sup>, Gustavo Ferrer Carneiro<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária – UFRPE, Recife, PE, Brasil; <sup>2</sup> Médico Veterinário – UFRPE, Recife, PE, Brasil; <sup>3</sup>Doutora em Ciência Animal Tropical - UFRPE; <sup>4</sup> Professor adjunto do Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE, Brasil  
\*E-mail: carneirogustavo1@gmail.com

The capuchin monkey, *Sapajus libidinosus*, is a primate belonging to the Cebidae family and is widely distributed throughout the country. Males of this species reach sexual maturity around 7 years of age. They are animals that live in groups, where there is a social hierarchy, with a dominant male, which has higher levels of testosterone compared to subordinate males. In Brazil, about 475 million wild animals are run over each year, so the use of gamete recovery from the epididymis can be used in fatal accident-victim species, for example. Further studies are necessary, either to evaluate the quality of the samples obtained by this technique, or if they support the cryopreservation process. Thus, the objective of this study was to evaluate the spermatocytic kinetics of an *S. libidinosus*, submitted to elective orchietomy at the Veterinary Hospital of the Federal Rural University of Pernambuco. The sample was obtained from the epididymis, which immediately after the procedure, were sent to the Laboratory of Andrology of FRUPE. The present work was submitted to SISGEN, under registration number A929F3E and SISBIO 349723. The technique used for sperm recovery was slicing of the epididymis, which was subsequently maintained for 10 minutes in TRIS-egg yolk extender medium. The recovered samples were centrifuged and resuspended to a concentration of  $200 \times 10^6$  sperm/ml in TRIS-egg yolk extender and refrigerated at 5°C for 48h. The kinetic parameters were evaluated immediately after collection, 24 and 48h of refrigeration, by the Computer Assisted Semen Analysis (CASA®), where total motility (MT, %), progressive motility (MP, %), linearity (LIN%), retilinearity (STR, %), and oscillation index (WOB, %) were considered; curvilinear velocity (VCL,  $\mu\text{m/s}$ ), straight velocity (VSL,  $\mu\text{m/s}$ ) and average trajectory velocity (VAP,  $\mu\text{m/s}$ ); lateral displacement of the head (ALH,  $\mu\text{m}$ ) and cross-beat frequency (BCF; Hz). The results obtained were as follows: Immediately after recovery: MT, %: 95.2; MP, %: 92.4; LIN, %: 80.9; STR, %: 90.8; WOB, %: 89.1; VCL,  $\mu\text{m/s}$ : 101.1; VSL,  $\mu\text{m/s}$ : 81.8; VAP,  $\mu\text{m/s}$ : 90.1; ALH,  $\mu\text{m}$ : 2; BCF; Hz: 8.2. After 24h refrigeration: MT, %: 47.6; MP, %: 42.4; LIN, %: 30.8; STR, %: 53.8; WOB, %: 57.3; VCL,  $\mu\text{m/s}$ : 84.4; VSL,  $\mu\text{m/s}$ : 26.0; VAP,  $\mu\text{m/s}$ : 48.4; ALH,  $\mu\text{m}$ : 3; BCF; Hz 6.1; and after 48h of refrigeration: MT, %: 49.6; MP, %: 37.7; LIN, %: 32.1; STR, %: 59.5; WOB, %: 54.0; VCL,  $\mu\text{m/s}$ : 70.8; VSL,  $\mu\text{m/s}$ : 22.7; VAP,  $\mu\text{m/s}$ : 38.2; ALH,  $\mu\text{m}$ : 3.3; BCF; Hz: 3.7. From the results obtained, it was possible to observe that the technique of sperm recovery from the epididymis can possibly be used in *S. libidinosus*, using a TRIS-egg yolk based extender and will serve as a basis for evaluating a larger group of individuals in future experiments. In addition, the cooling of the sample, after recovery, also showed favorable parameters, with motility preserved up to 48 hours. Although the results shown here have indicated an efficiency of the methodology used, further studies will be needed with a greater number of individuals in order to prove these promising results.

**Keywords:** Conservation, sperm motility, TRIS-egg yolk

## Caracterização morfológica dos espermatozoides de três espécies de cervos do gênero *Mazama*

Teresinha Inês Assumpção<sup>1</sup>, Caroline Silva Vieira<sup>1</sup>, José Mauricio Barbanti Duarte<sup>2</sup>, André Luíz Quagliatto Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG; <sup>2</sup>Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, UNESP/ Jaboticabal, SP

\*E-mail: teassumpcao@ufu.br

A reprodução é uma ferramenta importante na conservação das espécies selvagens, sendo fundamental o conhecimento básico da biologia reprodutiva das espécies para ser possível a aplicação das biotécnicas da reprodução. A qualidade do sêmen é muito variável nas espécies selvagens, o que tem grande relação com sua fertilidade, pois qualquer fator capaz de alterar a espermatogênese resulta na produção de espermatozoides com alterações morfológicas. Em cervídeos de vida livre e de cativeiro é observado alto grau de anormalidades nos espermatozoides, que pode ser causado por mecanismos de seleção natural, perda de variabilidade genética, estresse de manejo e mudança no ambiente. O objetivo deste estudo foi avaliar as características morfológicas dos espermatozoides de três espécies de cervos do gênero *Mazama*: veado catingueiro (*Mazama gouazoubira*, Fischer 1814), veado-roxo (*Mazama nemorivaga*, Cuvier 1817) e veado mateiro (*Mazama americana*, Erxleben 1777), pertencentes ao Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, UNESP, Campus Jaboticabal, Jaboticabal, SP. Foi coletado o sêmen de oito animais (dois veados catingueiro, dois veados roxo e quatro veados mateiro) pela técnica de eletroejaculação, após serem contidos quimicamente com cloridrato de xilazina e cloridrato de quetamina. A morfologia espermática foi avaliada pelo método de preparação em câmara úmida sob microscopia óptica de contraste de fase. Lâmina corada com vermelho congo (Cerovsky) foi utilizada para captura de imagens em microscópio Leica® (aumento de 1000 X) e a análise das imagens e medição das dimensões das células feitas no programa Image J (Leica®). Foram analisadas as dimensões do espermatozoide como comprimento e largura (medida no terço médio) da cabeça, peça intermediária e cauda. Os espermatozoides dos cervos foram muito semelhantes entre as espécies, apresentaram núcleo achatado de forma oval semelhante aos de bovinos. Não houve diferença significativa nas dimensões das células espermáticas entre as espécies, porém o *M. nemorivaga*, apresentou a cabeça do espermatozoide levemente maior que as outras. As dimensões médias foram: 1) *M. gouazoubira* - cabeça (comprimento x largura)  $8,38 \pm 0,09 \mu\text{m} \times 5,20 \pm 0,23 \mu\text{m}$ ; peça intermediária  $12,81 \pm 0,02 \mu\text{m}$  e cauda  $43,28 \pm 0,39 \mu\text{m}$ ; comprimento médio total  $64,47 \pm 0,49 \mu\text{m}$ ; 2) *M. nemorivaga* - cabeça (comprimento x largura)  $10,67 \pm 0,16 \mu\text{m} \times 5,99 \pm 0,39 \mu\text{m}$ ; peça intermediária  $13,32 \pm 0,73 \mu\text{m}$  e cauda  $40,42 \pm 1,21 \mu\text{m}$ ; comprimento médio total  $64,42 \pm 2,10 \mu\text{m}$ ; 3) *M. americana* - cabeça (comprimento x largura)  $8,85 \pm 0,04 \mu\text{m} \times 4,77 \pm 0,15 \mu\text{m}$ ; peça intermediária  $12,77 \pm 0,54 \mu\text{m}$  e cauda  $41,69 \pm 0,43 \mu\text{m}$ ; comprimento médio total  $63,30 \pm 1,01 \mu\text{m}$ . Em relação às anormalidades apresentadas pelas células espermáticas, os resultados obtidos mostram elevado número de espermatozoides anormais inferindo assim uma baixa qualidade no sêmen dos cervos e uma alta variabilidade entre as espécies. Foi verificada uma média de anormalidades totais para *M. gouazoubira*, *M. nemorivaga* e *M. americana* de, respectivamente,  $43 \pm 3,10\%$  ( $16 \pm 3,20\%$  maiores e  $27 \pm 3,13\%$  menores),  $59 \pm 5,41\%$  ( $34 \pm 5,96\%$  maiores e  $25 \pm 5,16\%$  menores),  $27 \pm 2,33\%$  ( $18 \pm 3,03\%$  maiores e  $9 \pm 1,25\%$  menores). Apenas o *M. americana* apresentou uma porcentagem um pouco menor de anormalidades, mas com alta quantidade de defeitos maiores ( $18 \pm 3,03\%$ ). A baixa qualidade do sêmen pode causar subfertilidade nos cervos, reduzindo a eficiência da reprodução e colocando em risco sua conservação. Importante progresso tem sido feito em várias tecnologias reprodutivas aplicadas aos cervos, porém ainda são necessárias muitas pesquisas para a eficiente reprodução da espécie *in situ* e *ex situ*.

**Palavras-chave:** cervídeos, morfologia espermática, sêmen, reprodução.

## Morphological characterization of sperm from three species of deer of the genus *Mazama*

Teresinha Inês Assumpção<sup>1</sup>, Caroline Silva Vieira<sup>1</sup>, José Mauricio Barbanti Duarte<sup>2</sup>, André Luíz Quagliatto Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Ensino e Pesquisa em Animais Silvestres, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG; <sup>2</sup>Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, UNESP/ Jaboticabal, SP

\*E-mail: teassumpcao@ufu.br

Reproduction is an important tool in the conservation of wild species, being fundamental the basic knowledge of the reproductive biology of the species to be possible the application of the reproduction biotechniques. Semen quality is very variable in wild species, which is closely related to its fertility, since any factor capable of altering spermatogenesis results in the production of spermatozoa with morphological alterations. In free-living and captive deer, a high degree of sperm abnormalities is observed, which can be caused by natural selection mechanisms, loss of genetic variability, management stress and change in the environment. The aim of this study was to evaluate the morphological characteristics of the sperm of three species of deer of the genus *Mazama*: brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer 1814), grey brocket deer e (*Mazama nemorivaga*, Cuvier 1817) and red brocket deer (*Mazama americana*, Erxleben 1777), belonging to the Center for Research and Conservation of Cervids, UNESP, Campus Jaboticabal, Jaboticabal, SP. Semen was collected from eight animals (two brown deer, two grey deer and four red deer) by the electroejaculation technique, after being chemically contained with xylazine hydrochloride and ketamine hydrochloride. Sperm morphology was evaluated by the wet chamber preparation method under optical phase contrast microscopy. Slide stained with Congo red (Cerovsky) was used to capture images in a Leica<sup>®</sup> microscope (1000X magnification) and to analyze the images and measure the cell dimensions using the Image J program (Leica<sup>®</sup>). Sperm dimensions such as length and width (measured in the middle third) of the head, midpiece and tail were analyzed. Deer spermatozoa were very similar between species, with oval-shaped flattened nuclei similar to those of bovines. There was no significant difference in the dimensions of the sperm cells between the species, however, *M. nemorivaga* presented the sperm head slightly larger than the others. The average dimensions were: 1) *M. gouazoubira* - head (length x width)  $8.38 \pm 0.09 \mu\text{m} \times 5.20 \pm 0.23 \mu\text{m}$ ; midpiece  $12.81 \pm 0.02 \mu\text{m}$  and tail  $43.28 \pm 0.39 \mu\text{m}$ ; mean total length  $64.47 \pm 0.49 \mu\text{m}$ ; 2) *M. nemorivaga* - head (length x width)  $10.67 \pm 0.16 \mu\text{m} \times 5.99 \pm 0.39 \mu\text{m}$ ; midpiece  $13.32 \pm 0.73 \mu\text{m}$  and tail  $40.42 \pm 1.21 \mu\text{m}$ ; total average length  $64.42 \pm 2.10 \mu\text{m}$ ; 3) *M. Americana* - head (length x width)  $8.85 \pm 0.04 \mu\text{m} \times 4.77 \pm 0.15 \mu\text{m}$ ; midpiece  $12.77 \pm 0.54 \mu\text{m}$  and tail  $41.69 \pm 0.43 \mu\text{m}$ ; total average length  $63.30 \pm 1.01 \mu\text{m}$ . Regarding the abnormalities presented by the sperm cells, the results obtained show a high number of abnormal sperm, thus inferring a low quality in the deer semen and a high variability between species. An average of total abnormalities for *M. gouazoubira*, *M. nemorivaga* and *M. americana* was, respectively,  $43 \pm 3.10\%$  ( $16 \pm 3.20\%$  higher and  $27 \pm 3.13\%$  minor),  $59 \pm 5.41\%$  ( $34 \pm 5.96\%$  major and  $25 \pm 5.16\%$  minor),  $27 \pm 2.33\%$  ( $18 \pm 3.03\%$  major and  $9 \pm 1.25\%$  minor). Only *M. americana* had a slightly lower percentage of abnormalities, but with a high number of major defects ( $18 \pm 3.03\%$ ). Poor semen quality can cause subfertility in deer, reducing reproduction efficiency and putting conservation at risk. Important progress has been made in various reproductive technologies applied to deer, but much research is still needed for the efficient reproduction of the species *in situ* and *ex situ*.

**Keywords:** cervids, sperm morphology, semen, reproduction.

## Estudos preliminares das subpopulações espermáticas de cervos Sambar (*Rusa Unicolor*) com espermatozoides colhidos da cauda de epidídimo *in natura* e após 24h de resfriamento

Isabella de Matos Brandão Carneiro<sup>1\*</sup>, Rodrigo Freitas Bittencourt<sup>4</sup>, Gleice Mendes Xavier<sup>1</sup>, Eduardo de Oliveira Costa\*, Roberta Ferreira Borges<sup>2</sup>, Amanda Íris dos Santos Correia<sup>3</sup>, Thamys Costa<sup>3</sup>, Matheus Martins Rodrigues dos Santo<sup>3</sup>, Carmo Emanuel A. Biscarde<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Tópicos – UFBA; <sup>2</sup>Programa de Residência em Reprodução animal e Obstetrícia Veterinária – UFBA, Salvador, BA, Brasil; <sup>3</sup>PIBIC do Setor de Reprodução Animal e Obstetrícia – EMEVZ/UFBA; <sup>4</sup>Professor Associado da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – UFBA; Médico-veterinário do Setor de Reprodução Animal e Obstetrícia – EMEVZ/UFBA

\*E-mail: isabella.brandao.c@hotmail.com

O conhecimento dos padrões espermáticos espécie-específicos permite a caracterização seminal, importante para viabilizar a criopreservação espermática e criação de bancos de germoplasmas, técnicas essas que oferecem um instrumento potencial para manutenção de populações geneticamente viáveis e consequentemente preservação de espécies em vulnerabilidade, como é o caso dos cervos Sambar. O estudo das subpopulações espermáticas permite selecionar indivíduos com características espermáticas que proporcionam maior resistência a criopreservação e maior adaptabilidade as biotécnicas reprodutivas. O presente trabalho teve o objetivo de avaliar as subpopulações espermáticas de amostras espermáticas, colhidas pós-orquiectomia, pela técnica da flutuação, dos epidídimos de cervos Sambar (*Rusa Unicolor*) provenientes do Zoológico de Salvador-BA, antes e após o resfriamento do complexo testículo-epididimário. Quatro animais (A, B, C e D), foram submetidos a orquiectomia bilateral e seus testículos processados, individualmente, no Laboratório de Reprodução da Universidade Federal da Bahia, para recuperação espermática logo após o procedimento cirúrgico (testículos esquerdos) e após 24 horas de resfriamento a 5° C (testículos direitos). As análises das subpopulações foram realizadas pelo sistema computadorizado SCA® (Microoptics, Barcelona, ESP), onde avaliou-se a porcentagem de subpopulações de espermatozoides móveis, de acordo com a velocidade de deslocamento celular (rápido, médio e lento), imóveis, hiperativos e com capacidade de penetração no muco cervical (*mucus penetration*). Em relação aos percentuais dos diferentes grupos de subpopulações espermáticas observadas nas amostras obtidas, pré e pós-resfriamento, foram: **rápidos**: A: 66,99%/26,04%; B: 48,47%/26,04%; C: 19,83%/25,61% e D: 34,56%/30,72%; **médios**: A: 7,72%/7,03%; B: 9,39%/9,60%; C: 7,85%/9,81%; e D: 8,29%/8,86%; **lentos**: A: 6,95%/8,59%; B: 4,15%/12%; C: 9,5%/10,63% e D: 21,66%/10,44%; **imóveis**: A: 18,34%/58,33%; B: 37,99%/38,13%; C: 62,81%/53,95% e D: 35,48%/50% e **hiperativos**: A: 41,51%/6,51%; B: 19,43%/13,07%; C: 2,07%/8,99% e D: 11,52%/13,92%. Já para o parâmetro **mucus penetration**, pré e pós-resfriamento, observaram-se para o animal A: 5,79%/4,43%, animal B: 13,32%/12%, animal C: 10,74%/6,81% e animal D: 4,43%/6,33%. Apesar de serem dados preliminares, a avaliação antes e após resfriamento das subpopulações de espermatozoides epididimários irão possibilitar melhorias no desenvolvimento e eficiência de técnicas reprodutivas naqueles indivíduos com considerável valor genético e que por alguma razão (morte, doenças ou distância geográfica) estão impossibilitados a cópula ou colheita seminal.

**Palavras-chave** Epidídimo, CASA, Recuperação espermática, Resfriamento

## Preliminary study of Spermatic subpopulations of Sambar deer (*Rusa Unicolor*) with sperm collected from the epididymal tail *in natura* and after 24h of cooling

Isabella de Matos Brandão Carneiro<sup>1\*</sup>, Gleice Mendes Xavier<sup>1</sup>, Eduardo de Oliveira Costa\*, Roberta Ferreira Borges<sup>2</sup>, Mirela S. Miranda<sup>2</sup>, Amanda Íris dos Santos Correia<sup>3</sup>, Thamys Costa<sup>3</sup>, Matheus Martins Rodrigues dos Santo<sup>3</sup>, Rodrigo Freitas Bittencourt<sup>4</sup>, Carmo. Emanuel A. Biscarde<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Tópicos – UFBA; <sup>2</sup>Programa de Residência em Reprodução animal e Obstetrícia Veterinária – UFBA, Salvador, BA, Brasil; <sup>3</sup>Estágio no setor de Reprodução Animal e Obstetrícia – HospMev/UFBA;

<sup>4</sup>Professor Adjunto da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – UFBA; <sup>5</sup>Técnico de nível superior no setor de Reprodução Animal e Obstetrícia – HospMev/UFBA

\*E-mail: isabella.brandao.c@hotmail.com

Knowledge of species-specific sperm patterns allows for seminal characterization, which is important to enable sperm cryopreservation and creation of germplasm banks, techniques that offer a potential instrument for maintaining genetically viable populations and consequently preserving vulnerable species, such as Sambar deer case. The study of sperm subpopulations allows selecting individuals with sperm characteristics that provide greater resistance to cryopreservation and greater adaptability to reproductive biotechnologies. The present study aimed to evaluate the sperm subpopulations of sperm samples, collected after orchietomy, by the flotation technique, from the epididymis of Sambar deer (*Rusa Unicolor*) from the Salvador Zoo-BA, before and after cooling the testis-epididymal complex. Four animals (A, B, C and D) underwent bilateral orchietomy and their testes were individually processed at the Reproduction Laboratory of the Federal University of Bahia, for sperm recovery soon after the surgical procedure (left testes) and after 24 hours. of cooling to 5°C (right testicles). Subpopulation analyzes were performed using the computerized system SCA® (Microoptics, Barcelona, ESP), where the percentage of motile sperm subpopulations was evaluated, according to cell displacement speed (fast, medium and slow), immobile, hyperactive and capable of penetrating the cervical mucus (mucus penetration). In relation to the percentages of the different groups of sperm subpopulations observed in the samples obtained, before and after cooling, they were: **fast**: A: 66.99%/26.04%; B: 48.47%/26.04%; C: 19.83%/25.61% and D: 34.56%/30.72%; **averages**: A: 7.72%/7.03%, B: 9.39%/9.60%, C: 7.85%/9.81% and D: 8.29%/8.86%; **slow**: A: 6.95%/8.59%, B: 4.15%/12%, C: 9.5%/10.63% and D: 21.66%/10.44%; **still**: A: 18.34%/58.33%, B: 37.99%/38.13%; C: 62.81%/53.95% and D: 35.48%/50% and **hyperactive**: A: 41.51%/6.51%, B: 19.43%/13.07%, C: 2.07%/8.99% and D: 11.52%/13.92%. As for the mucus penetration parameter, pre and post-cooling, it was observed for animal A: 5.79%/4.43%, animal B: 13.32%/12%, animal C: 10.74%/ 6.81% and animal D: 4.43%/6.33%. Despite being preliminary data, the evaluation before and after cooling of the subpopulations of epididymal spermatozoa will allow improvements in the development and efficiency of reproductive techniques in those individuals with considerable genetic value and who for some reason (death, disease or geographic distance) are unable to mate. or seminal harvest.

**Keywords** Epididymis, SCA, Sperm recovery, Cooling



## Estudos preliminares de parâmetros espermáticos computadorizados, de cervos Sambar (*Rusa Unicolor*), obtidos após colheita epididimária e após 24h de resfriamento do complexo testículo-epididimário

Eduardo de Oliveira Costa<sup>1\*</sup>, Rodrigo Freitas Bittencourt<sup>3</sup>, Gleice Mendes Xavier<sup>1</sup>, Isabella de Matos Brandão Carneiro<sup>1</sup>, Amanda Íris dos Santos Correia<sup>2</sup>, Thamys Costa<sup>2</sup>, Matheus Martins Rodrigues dos Santos<sup>2</sup>, Roberta Ferreira Borges<sup>4</sup>, Carmo Emanuel Almeida Biscarde<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Tópicos – UFBA; <sup>2</sup>Estágio no setor de Reprodução Animal e Obstetrícia – EMEVZ/UFBA; <sup>3</sup>Professor Associado da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – UFBA; <sup>4</sup>Programa de Residência em Reprodução animal e Obstetrícia Veterinária – UFBA, Salvador, BA, Brasil; <sup>5</sup>Técnico de nível superior no setor de Reprodução Animal e Obstetrícia – EMEVZ/UFBA

\*E-mail: m.v.eduardo@outlook.com

Visando o desenvolvimento técnico da criopreservação de sêmen de animais silvestres e formação de banco genético, especialmente em animais susceptíveis à extinção, a análise de padrões espermáticos fornece informações importantes para caracterização seminal e viabilidade da criopreservação de determinadas espécies. Os cervos Sambar (*Rusa unicolor*), de ocorrência natural principalmente na Índia e sudoeste asiático, fazem parte de uma família de ruminantes selvagens de ampla distribuição geográfica, os cervídeos, com representação de espécies também no Brasil. No entanto, tal espécie se encontra em condição de conservação classificada como vulnerável pela União Internacional para a Conservação da Natureza desde 2014. Neste trabalho, objetivou-se evidenciar parâmetros espermáticos computadorizados, de células recuperadas do epidídimo de machos adultos, logo após a orquiectomia ou 24h depois do resfriamento do complexo testículo-epididimário, de cervos Sambar *ex situ* residentes do Parque Zoológico Getúlio Vargas (Zoológico de Salvador-BA). Um total de quatro animais (identificados de 1 a 4) foram submetidos à orquiectomia, sendo seus testículos acondicionados em caixas térmicas e imediatamente transportados para o Laboratório de Reprodução animal do HOSPMEV-UFBA, adjacente ao zoológico, para processamento. O testículo esquerdo foi submetido a lavagem epididimária pela técnica de flutuação, para recuperação espermática logo após sua chegada. O testículo direito foi armazenado em refrigerador com temperatura estabilizada em 5°C, para ser processado após 24 horas de resfriamento. Para as análises computadorizadas da cinética espermática, utilizou-se o sistema SCA® (New Rute, Miam, USA). Os parâmetros avaliados foram a Motilidade total (MP), Motilidade progressiva (MP), Velocidade de percurso (VAP), Velocidade curvilínea (VCL), Velocidade Linear (VSL), Linearidade (LIN), Retilinearidade (STR), Deslocamento de cabeça (ALH), Índice de oscilação (WOB) e Batimento flagelar cruzado (BCF). Como resultado, obteve-se para o **animal 1**, logo após a colheita e pós-resfriamento, respectivamente: MT (%) – 86,66 e 41,57; MP (%) – 68,15 e 27,34; VAP (µm/s) – 79,13 e 49,82; ALH (µm/s) – 5,38 e 4,46; VCL (µm/s) – 135,66 e 100,48; VSL (µm/s) – 34,18 e 26,36; STR (%) – 45,81 e 53,49; LIN (%) – 27,05 e 27,83; BCF (Hz) – 8,39 e 8,38 e WOB – 58,31 e 50,57. Para o **animal 2** obteve-se: MT (%) – 62,01 e 61,87; MP (%) – 54,37 e 45,33; VAP (µm/s) – 80,87 e 60,05; ALH (µm/s) – 4,5 e 4,36; VCL (µm/s) – 123,84 e 107,73; VSL (µm/s) – 44,59 e 34,54; STR (%) – 58,42 e 57,58; LIN (%) – 41,92 e 33,67; BCF (Hz) – 8,83 e 8,8 e WOB – 67,25 e 55,72. Para o **animal 3** foi observado: MT (%) – 37,19 e 46,05; MP (%) – 25,21 e 30,25; VAP (µm/s) – 57,42 e 53,23; ALH (µm/s) – 3,54 e 4,2; VCL (µm/s) – 95,52 e 99,8; VSL (µm/s) – 39,24 e 25,67; STR (%) – 67,23 e 51,11; LIN (%) – 44,57 e 28,67; BCF (Hz) – 11,34 e 8,34 e WOB – 62,93 e 53,40. E por fim, para o **animal 4**, foi encontrado valores de MT (%) – 64,52 e 50,00; MP (%) – 36,87 e 33,54; VAP (µm/s) – 48,03 e 59,66; ALH (µm/s) – 3,92 e 4,13; VCL (µm/s) – 94,54 e 106,25; VSL (µm/s) – 18,31 e 25,89; STR (%) – 42,70 e 47,60; LIN (%) – 22,81 e 28,82; BCF (Hz) – 8,15 e 10,08 e WOB – 51,52 e 56,33. Ainda em fase preliminar, pode-se observar a proximidade numérica das médias obtidas entre os parâmetros espermáticos obtidos com amostras colhidas logo após a orquiectomia e pós-resfriamento, o que pode representar resultados promissores para formação de banco de sêmen de animais que venham a morrer no campo, a grandes distâncias de laboratórios especializados em reprodução animal. Novas repetições e análises complementares vêm sendo realizados para aprimoramento de técnicas para formação de banco genético de cervos Sambar e a viabilidade de utilização da técnica para cervos nativos da fauna brasileira.

**Palavras-chave:** Criopreservação, Epidídimo, Recuperação espermática, Silvestres.

## Preliminary studies of computerized sperm parameters of Sambar deer (*Rusa Unicolor*), obtained after epididymal harvest and after 24h of cooling of the testis-epididymal complex

Eduardo de Oliveira Costa<sup>1\*</sup>, Rodrigo Freitas Bittencourt<sup>3</sup>, Gleice Mendes Xavier<sup>1</sup>, Isabella de Matos Brandão Carneiro<sup>1</sup>, Amanda Íris dos Santos Correia<sup>2</sup>, Thamys Costa<sup>2</sup>, Matheus Martins Rodrigues dos Santos<sup>2</sup>, Roberta Ferreira Borges<sup>4</sup>, Carmo Emanuel Almeida Biscarde<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Tópicos – UFBA; <sup>2</sup>Estágio no setor de Reprodução Animal e Obstetrícia – EMEVZ/UFBA; <sup>3</sup>Professor Associado da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – UFBA; <sup>4</sup>Programa de Residência em Reprodução animal e Obstetrícia Veterinária – UFBA, Salvador, BA, Brasil; <sup>5</sup>Técnico de nível superior no setor de Reprodução Animal e Obstetrícia – EMEVZ/UFBA

\*E-mail: m.v.eduardo@outlook.com

Aiming at the technical development of wild animal semen cryopreservation and genetic bank formation, especially in animals susceptible to extinction, the analysis of sperm patterns provides important information for seminal characterization and feasibility of cryopreservation of certain species. Sambar deer (*Rusa unicolor*), naturally occurring mainly in India and Southeast Asia, are part of a family of wild ruminants with a wide geographic distribution, the deer, with representation of species also in Brazil. However, this species has been in a conservation condition classified as vulnerable by the International Union for Conservation of Nature (IUCN) since 2014. The present work aimed to evidence computerized sperm parameters, from cells recovered from the epididymis of adult males, soon after orchietomy or 24 hours after the cooling of the testis-epididymal complex, from ex situ Sambar deer residing at the Getúlio Vargas Zoobotanical Park (Zoológico de Salvador-BA). A total of four animals (identified from 1 to 4) were submitted to orchietomy, and their testes were placed in thermal boxes and immediately transported to the Animal Reproduction Laboratory at HOSPMEV-UFBA, adjacent to the zoo, for processing. The left testicle was submitted to epididymal lavage by the flotation technique, for sperm recovery soon after its arrival. The right testicle was stored in a refrigerator with a temperature stabilized at 5°C, to be processed after 24 hours of cooling. For computerized analysis of sperm kinetics, the SCA® system (New Ruth, Miami, USA) was used. The parameters evaluated were Total Motility (MP), Progressive Motility (MP), Travel Velocity (VAP), Curvilinear Velocity (VCL), Linear Velocity (VSL), Linearity (LIN), Straightness (STR), Head Displacement (ALH), Oscillation Index (WOB) and Crossed flagellar beating (BCF). As a result, it was obtained for **animal 1**, in natura and after cooling, respectively: MT (%) – 86.66 and 41.57; MP (%) - 68.15 and 27.34; VAP (µm/s) - 79.13 and 49.82; ALH (µm/s) – 5.38 and 4.46; VCL (µm/s) – 135.66 and 100.48; VSL (µm/s) – 34.18 and 26.36; STR (%) – 45.81 and 53.49; LIN (%) - 27.05 and 27.83; BCF (Hz) – 8.39 and 8.38 and WOB – 58.31 and 50.57. For **animal 2** we obtained: MT (%) – 62.01 and 61.87; MP (%) - 54.37 and 45.33; VAP (µm/s) - 80.87 and 60.05; ALH (µm/s) – 4.5 and 4.36; VCL (µm/s) - 123.84 and 107.73; VSL (µm/s) – 44.59 and 34.54; STR (%) – 58.42 and 57.58; LIN (%) - 41.92 and 33.67; BCF (Hz) – 8.83 and 8.8 and WOB – 67.25 and 55.72. For **animal 3** it was observed: MT (%) – 37.19 and 46.05; MP (%) - 25.21 and 30.25; VAP (µm/s) – 57.42 and 53.23; ALH (µm/s) - 3.54 and 4.2; VCL (µm/s) – 95.52 and 99.8; VSL (µm/s) – 39.24 and 25.67; STR (%) - 67.23 and 51.11; LIN (%) - 44.57 and 28.67; BCF (Hz) – 11.34 and 8.34 and WOB – 62.93 and 53.40. And finally, for **animal 4**, MT values were found (%) – 64.52 and 50.00; MP (%) - 36.87 and 33.54; VAP (µm/s) - 48.03 and 59.66; ALH (µm/s) - 3.92 and 4.13; VCL (µm/s) - 94.54 and 106.25; VSL (µm/s) – 18.31 and 25.89; STR (%) - 42.70 and 47.60; LIN (%) - 22.81 and 28.82; BCF (Hz) – 8.15 and 10.08 and WOB – 51.52 and 56.33. Preliminarily, it is possible to observe the numerical proximity of the averages obtained between the sperm parameters obtained with samples collected soon after orchietomy and post-cooling, which may represent promising results for the formation of a semen bank of animals that will die in the field, at great distances from laboratories specialized in animal reproduction. New repetitions and complementary analyzes have been carried out to improve techniques for the formation of a genetic bank for Sambar deer and the feasibility of using the technique for native deer of the Brazilian fauna.

**Keywords:** Cryopreservation, Epididymis, Sperm