

PRODUÇÃO DE DILUENTE TIPO B.T.S (BELTSVILE THAWING SOLUTION)

Cristina Maria Pacheco Barbosa¹
Roberto Carlos Vicente de Oliveira²

Introdução

O presente projeto será realizado em duas etapas, na primeira fase de preparo e embalagem do produto será nas instalações da Etec Dr. Dario Pacheco Pedroso, localizada em Taquarivai - SP.

Na segunda etapa, o diluente será testado a campo nas instalações laboratoriais da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Itapeva, localizada em Itapeva - SP.

O Brasil possui um plantel de suínos que varia de 32 a 37 milhões de fêmeas suínas, possui hoje o maior número de porcas inseminadas na América Latina, porém em porcentagem do rebanho o Chile é o primeiro.

A inseminação artificial (IA) de suínos tem se desenvolvido mundialmente de forma muito rápida, atualmente é uma realidade junto a granjas suinícolas brasileiras tecnificadas. Estima-se que, atualmente, sejam realizadas aproximadamente 400.000 primeiras inseminações / ano nos principais centros de produção suinícola do país. A intensa difusão da IA está relacionada com a redução do custo final de produção, pois dentre outras, esta biotécnica permite uma redução das variáveis relacionadas a cobertura, pois há um maior controle na qualidade dos ejaculados empregados. No entanto, vários aspectos que influenciam na eficiência reprodutiva devem estar sob controle, evitando que falhas no emprego desta biotécnica revertam a viabilidade econômica do processo. Dentre estes deve ser citado a qualidade da dose inseminante (DI). A qualidade da DI esta relacionada a fatores individuais dos machos e a fatores inerentes a tecnologia do sêmen, estando estes, normalmente,

1 Pesquisadora Científica, Unidade de P&D de Itapetininga/APTA/DDD/SAA. E-mail: cristina@apta.sp.gov.br.

2 Técnico A.P.C.T IV, Unidade de P&D de Itapeva/APTA/DDD/SAA e Professor II, Etec Dr Dario Pacheco Pedroso de Taquarivai/CPS/SCT.

associados a coleta e a manipulação do ejaculado e armazenamento da dose. A coleta e a manipulação do ejaculado devem estar associadas, principalmente, a cuidados higiênicos do material que entra em contato com o ejaculado, bem como a qualidade do diluente a ser empregado.

Na inseminação artificial em suínos, o sêmen é usado, na maioria das vezes, resfriado a 15 a 18°C, sendo o diluente mais utilizado é o Beltsville Thawing Solution (BTS). Este método tem se mostrado eficiente para difusão de material genético, mas o seu processamento, armazenamento ou transporte pode prejudicar a viabilidade espermática, comprometendo a qualidade da dose inseminante.

A qualidade da dose inseminante no armazenamento pode ser influenciada pela sedimentação dos espermatozóides, pois o armazenamento por 48 horas, sem agitação, resulta em decréscimo na viabilidade (RODRIGUEZ; RIGAU, 1995). Portanto, a ressuspensão dos espermatozóides minimizaria os efeitos de aglutinação das células, o que prejudica o metabolismo espermático, pois a sedimentação impede que as células se mantenham em contato com os crioprotetores, diminuindo as trocas entre os espermatozóides e o meio. A rotação deve ocorrer pelo menos duas vezes ao dia, com o cuidado de evitar a oscilação de temperatura das doses pelo contato com a mão, o que poderia prejudicar a morfologia espermática, reduzindo os índices de fertilidade (PEDERSEN et al, 1995; BERGER et al, 1996).

Diluente tipo B.T.S (Beltsville Thawing Solution) e salino difere dos demais pela proporção básica de seus componentes. Enquanto que outros possuem macromoléculas como a B.S.A. soro albumina bovina, álcool polivinílico, e são considerados diluentes de longa duração (Androhep, M.R.A, Zorlesco, Buschiweler, Reading, etc), permitindo a conservação por até 6 –7 dias a 16° C. Admite-se que as macromoléculas exerçam proteção contra o choque térmico, variações do pH e da pressão osmótica. A soro albumina bovina (B.S.A.) parece exercer efeito protetor por remoção de catabólitos que são capazes de lesar a membrana plasmática, O álcool polivinílico, outra macro molécula que é capaz de manter a motilidade dos espermatozóides e o acrossoma intacto por período prolongado, mas o mecanismo de ação não é conhecido.

Outro fator a ser considerado é a taxa de diluição que com certeza pode interferir na motilidade e longevidade do sêmen diluído. Taxa de diluição refere-se a relação partes de sêmen por partes de diluidor Silva Filho (1994) relatou que a diluição excessiva reduz a viabilidade, espermática, fenômeno conhecido como efeito diluição. Para Varner et.al (1987) o efeito diluição tem sido observado em várias espécies e pode estar relacionado a vários fatores, dentre eles com a taxa de diluição e composição do diluente.

Para Pursel et. al. (1973) a susceptibilidade dos espermatozóides ao choque térmico varia com a taxa de diluição, será maior quanto maior for a taxa de diluição. Um importante fator a ser considerado na avaliação da eficiência de um diluidor de sêmen e a determinação da concentração espermática por dose inseminante. Para Cambo et. al. (1988) a concentração por dose inseminável esta entre 3.000.000.000 a 5.000.000.000 (bilhões) de espermatozóides e um volume de 100 ml, e nunca superior a 8.000.000.000 de espermatozóides em um volume de 100 ml.

O presente projeto pretende produzir diluente tipo B.T.S (Beltsville Thawing Solution), com aquisição de matéria-primas nacionais, porém mantendo elevado grau de qualidade similares ao produto importado.

Objetivos:

Objetivos gerais:

- Produzir, colocar no mercado e comercializar o diluente tipo B.T.S Beltsville Thawing Solution;
- Proteger e melhor nutrir as células reprodutivas (espermatozóides), durante o período de armazenamento, com a adição de antibiótico ao mesmo;

Objetivos Específicos:

- Produzir um meio de diluição equilibrado, para a diluição e correta nutrição das células espermáticas, garantindo a alta viabilidade da dose inseminante (D.I);
- Proporcionar ao ejaculado (sêmen suíno) alta viabilidade para as inseminações, contribuindo para o aumento de fertilidade e prolificidade do rebanho;

Metodologia

O presente projeto será realizado na primeira fase de preparo e embalagem do produto em instalações da Etec Dr. Dario Pacheco Pedroso, localizada em Taquarivaí - SP. Serão utilizados os seguintes ingredientes: **GLICOSE MONOHIDRATDA P.A; CITRATO DE SÓDIO P.A; BICARBONATO DE SÓDIO P.A; E.D.T.A P.A; CLORETO DE POTÁSSIO P.A; CLORETO DE POTÁSSIO P.A e SULFATO DE GENTAMICINA**, que irão compor o diluente tipo B.T.S, ambos serão pesados nas proporções demonstradas na tabela 01 abaixo e posteriormente misturados em misturador para laboratório e embalados em embalagens aluminizada de 50 g, quantidade suficiente para 1.000 ml de água destilada.

Tabela 01. Tabela 01. Diluente tipo B.T.S (Beltsville Thawing Solution) - curta duração

INGREDIENTES	g
GLICOSE MONOHIDRATDA P.A	40,35
CITRATO DE SÓDIO P.A	6,0
BICARBONATO DE SÓDIO P.A	1,3
E.D.T.A P.A	1,3
CLORETO DE POTÁSSIO P.A	0,8
SULFATO DE GENTAMICINA	0,25
TOTAL DE SÓLIDOS	50,00

A segunda fase do projeto o diluente será testado a campo nas instalações laboratoriais da Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento Itapeva, localizada em Itapeva. Serão utilizados os ejaculados de três machos pertencentes a UPD de Itapeva Landrace(LD) 04, Híbrido (MS) 1442 e Duroc (DR) 1509 . Será também utilizado o ejaculado de um macho pertencente a Etec Dr. Dario Pacheco Pedroso MS 115(MS) EMBRAPA.

O sêmen será coletado seguindo todos os protocolos pré- estabelecidos para coleta processamento e análises do material e diluído no diluente tipo B.T.S (Beltsville Thawing Solution) produzido na fase 1 do projeto. Após diluição o material será armazenado em conservadora para sêmen suíno em temperaturas entre 15 - 18°C, onde serão realizadas viragens do material armazenado e análises de motilidade com intervalos de 12 horas (**ficha de avaliação espermática em anexo**), antes da análise o material será aquecido em banho maria a temperatura de 37°C para verificar a motilidade na temperatura que ele encontraria no útero da fêmea suína quando inseminada

CRONOGRAMA: 2016

Coleta de Dados	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
Análise de Dados	X							
Estudo bibliográfico	X							
Busca de equipamentos	X							
Montagem de equipamentos	X							
Elaboração do Projeto	X							
Aquisição produtos químicos		X						
Preparo dos diluentes		X	X	X	X	X	X	X
Teste do diluente a em laboratório					X	X	X	X
Apresentação do Projeto				X				

Recursos necessários

DILUENTE TIPO B.T.S (BELTSVILLE THAWING SOLUTION) - CURTA DURAÇÃO

INGREDIENTES	g	CUSTO R\$
GLICOSE MONOHIDRATDA P.A	40,35	2,97
CITRATO DE SÓDIO P.A	6	0,23
BICARBONATO DE SÓDIO P.A	1,3	0,032
E.D.T.A P.A	1,3	0,134
CLORETO DE POTÁSSIO P.A	0,8	0,049
SULFATO DE GENTAMICINA	0,44	0,173
TOTAL DE SOLIDOS	50	3,59

Material de consumo

DILUENTE TIPO B.T.S (BELTSVILLE THAWING SOLUTION) - CURTA DURAÇÃO				
MATERIAL DE CONSUMO		QUANTIDADE	UNITARIO	TOTAL
PRODUTOS	APRESENTAÇÃO	EXPERIMENTO	R\$	R\$
GLICOSE MONOHIDRATDA P.A	POTE 500 GRAMAS	2,0 KG	36,77	147,08
CITRATO DE SÓDIO P.A	POTE 1000 GRAMAS	1KG	38,4	38,4
BICARBONATO DE SÓDIO P.A	POTE 100 GRAMAS	1KG	24,5	24,5
E.D.T.A P.A	POTE 500 GRAMAS	0,5 KG	51,53	51,53
CLORETO DE POTÁSSIO P.A	POTE 500 GRAMAS	0,5 KG	30,83	30,83
SULFATO DE GENTAMICINA	FRASCOS DE 100 ML	2 FRASCOS	17,36	34,72
CANUDINHOS DE REFRIGERANTE	PACOTES COM 100	2 PACOTES	2,5	5
AGUA DESTILADA	20 LITROS	20 LITROS	EPEC/APTA	EPEC/APTA
AGUA TRIDESTILADA	2 LITROS	20 LITROS	APTA	APTA
LÂMINAS PARA MICROSCOPIA 26 X 76	CAIXA COM 50 UN//	10 CAIXAS	5,5	55
LAMINULAS PARA MICROSCOPIA	CAIXA COM 100 UN//	5 CAIXAS	5,5	27,5
ALCOOL GEL 70°	FRASCO 500 GRAMAS	10 FRASCOS	5,5	55

Programa Educativo e Social JC na Escola: Ciência Alimentando o Brasil

FILTRO PARA COLETA DE SEMEN SUINO	PACOTE COM 200 UN//	1 PACOTE	39	39
ELASTICO DE LATEX	CAIXA COM 100 UN//	2 CAIXAS	3,5	7
COPO DESCARTÁVEL DE 500 ML	PACOTE COM 50 UN//	2 PACOTES	5	10
CAIXAS DE ISOPOR	UNIDADE	4 UNIDADES	2,5	10
LUVAS DE LATÉX GRANDE	CAIXA	2 CAIXAS	16	32
AMPOLAS DESCARTÁVEIS PARA SEMEN SUINO	UNIDADE	500 UNIDADES	0,175	87,5
TOTAL				655,06

Material permanente

MATERIAL PERMANENTE - EXISTENTE

EQUIPAMENTOS	APTA	CEETEPS
MICROSCÓPIO OTICO	1	1
CAMERA FOTOGRAFICA	0	1
MICROCAMERA PARA MICROSCÓPIO	1	1
CAMARA DE NEWBAUER	1	1
BANHO MARIA	3	2
TV	1	2
ESTUFA DE SECAGEM E ESTERILIZAÇÃO	1	2
ESTUFA BACTERIOLÓGICA	2	0
BALANÇA DE PRECISÃO	0	2
AGITADOR MAGNÉTICO	0	1
PHAMETRO	1	1
PLACA AQUECEDORA PARA MICROSCÓPIO	1	0
AUTOCLAVE	1	2
CAMARA ASSÉPTICA	0	1
REPIPETADOR AUTOMÁTICO	2	0

Estimativa de custo de produção e valor de comercialização do produto

Custo estimado de R\$3,59 podendo ser comercializado por R\$ 5,50. Gerando um lucro de R\$1,91 por pacote de 50 g.

Resultados esperados

Produzir, avaliar e comercializar o diluente tipo B.T.S (Beltsville Thawing Solution), para diluição do sêmen suíno.

Fornecer suporte técnico referente a produção à análise e processamento do sêmen suíno, onde os alunos poderão analisar o material armazenado verificando a viabilidade de seu uso na inseminação dos suínos.

Referências

- BERGER, T., ANDERSON, D.L., PENEDO, M.C.T. Porcine sperm fertilizing potencial in relationship to sperm functional capacities. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 44, n. 4, p. 231-239. 1996.
- CAMBÓ, E., TORO, Y., ARIAS, T. Efectividad de la inseminación artificial con semen porcino transportado en dos concentraciones espermáticas, In: CONGRESS OF INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY, 10, 1988, Rio de Janeiro. **Proceeding...**, Concordia: Embrapa - CNPSA, 1988, p. 319.
- PEDERSEN, N.P. THE INTERNATIONAL COMMITTEE FOR PIG BREEDING, HEALTH AND PRODUCTION et al. Handling semen. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO E INDUSTRIALIZAÇÃO DE SUÍNOS, 1, 1995, Campinas. **Anais...** Campinas, 1995. p.65-69.
- PUSEL, V. G., JOHNSON, L. A SCHULMAN, L. L. Effect of dilution seminal plasma and incubation period on cold shock susceptibility of boar spermatozoa. **J. Anim. Sci.**, v. 37, n. 2, p. 528-531, 1973.
- RODRÍGUEZ-GIL, J.E.; RIGAU, T. Effects of slight agitation on the quality of refrigerated boar sperm. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p. 141-146, 1995.
- SILVA-FILHO, J.M. **Aspectos do manejo reprodutivo e do sêmen na inseminação artificial de éguas**. 1994. 408 p. Tese (Doctor Scientiae) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia. Viçosa: UFV, 1994.
- VARNER, D. D.; BLANCHARD, D. T., LOVE, C. L., et al. Effects os semen ftactionation and dilution ratio on equine spermatozoal motility parameters. **Theriogenology**, v. 28, n. 5, p. 709-723, 1987.

Referências Consultadas

- BORDIGNON, V., DESCHAMPS, J. C., SECHIN, A. et al. Efeito da trealose sobre a motilidade, acrossoma e fertilidade do sêmen suíno. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 20, p. 54-62. 1996.
- BORTOLOZZO, F. P., WENTZ, I. Inseminação artificial em suínos no Brasil. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 21, n. 3. 1997.
- DESCHAMPS, J. C., CORRÊA, M.N., LUCIA, T. Jr. Impacto da inseminação artificial em

suínos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v. 22, p. 75–79. 1998.

DESCHAMPS, J. C., BASTOS, R. G., NICOLA, E. S. Avanços da biotecnologia em suínos. **Ciência Animal.** v. 7, p. 79–88. 1997.

FÁVERO, J. A. Tendências da tipificação de carcaças e da qualidade da carne suína no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 4, 1989, Itapema. **Anais...Itapema**, 1989, p. 7–10.

IRGANG, R. Avaliação e tipificação de carcaças de suínos no Brasil. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO E INDUSTRIALIZAÇÃO DE SUÍNOS, 2, 1996, Campinas. **Anais...** Campinas, 1996, p. 67–86.

MOURA, S. C. Produção de suínos a baixo custo. **Artigo técnico**, s.d.

WENTZ, I., VARGAS, A. J.; BORTOLOZZO, F. P., CASTAGNA, C. D. Inseminação artificial em suínos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL MINITÜB, 3. 2000, Flores da Cunha-RS. **Anais...** Flores da Cunha-RS, 2000. p. 5–12.



Ilustração: Elen Ravanelli