



UFC

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**

BRUNO RAMIRES MACEDO COSTA

**INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE FRUTOSE SOBRE A QUALIDADE
DO SÊMEN FRESCO E CONSERVADO A 4°C ATÉ 48H DE CAPRINOS CRIADOS EM
CLIMA TROPICAL**

FORTALEZA

2021

BRUNO RAMIRES MACEDO COSTA

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE FRUTOSE SOBRE A QUALIDADE DO
SÊMEN FRESCO E CONSERVADO A 4°C ATÉ 48H DE CAPRINOS CRIADOS EM CLIMA
TROPICAL.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Zootecnia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Zootecnia.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Ana Cláudia Nascimento Campos.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C87i Costa, Bruno Ramires Macedo.
Influência da concentração inicial de frutose sobre a qualidade do sêmen fresco e conservado a 4°C até 48h de caprinos criados em clima tropical. / Bruno Ramires Macedo Costa. – 2021.
19 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Zootecnia, Fortaleza, 2021.
Orientação: Profa. Dra. Ana Cláudia Nascimento Campos.
1. Reprodução animal. 2. Capra hircus. 3. Conservação do sêmen. 4. Plasma seminal. 5. Bioquímica. I.
Título.

CDD 636.08

BRUNO RAMIRES MACEDO COSTA

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DE FRUTOSE SOBRE A QUALIDADE DO
SÊMEN FRESCO E CONSERVADO A 4°C ATÉ 48H DE CAPRINOS CRIADOS EM CLIMA
TROPICAL.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Zootecnia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Zootecnia.

Aprovado em: 30/08/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra Ana Cláudia Nascimento Campos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Carla Renata Figueiredo Gadelha
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ms Caio Júlio Lima Herbster
Universidade Federal do Ceará (UFC)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	7
MATERIAL E MÉTODOS	9
<i>Experimento 1</i>	9
<i>Experimento 2</i>	10
RESULTADOS	12
DISCUSSÃO	13
CONCLUSÕES	15

Influência da concentração inicial de frutose sobre a qualidade do sêmen fresco e conservado a 4°C até 48h de caprinos criados em clima tropical.

[Influence of the initial concentration of fructose on the quality of fresh semen and preserved at 4°C up to 48h of goats reared in tropical climate.]

COSTA¹, Bruno Ramires Macedo; ARAUJO, Alan Martins de²; CAMPOS⁴, Ana Cláudia Nascimento;

⁴Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias; Departamento de Zootecnia; Fortaleza; Ceará, Brasil.

Resumo: Objetivou-se avaliar a influência da concentração inicial de frutose no plasma seminal caprino sobre a qualidade espermática. Seis bodes foram utilizados e divididos em dois grupos experimentais de acordo com a concentração inicial de frutose no plasma seminal: grupo I (> 710mg/dL) e grupo II (< 480mg/dL). O experimento foi conduzido em duas etapas: na primeira, testou-se o efeito da lavagem prévia do sêmen sobre a qualidade espermática. Na segunda etapa, realizou-se a troca do plasma seminal (PS) entre os animais dos dois grupos. Logo após a diluição, as amostras experimentais de ambas as etapas foram submetidas ao Teste de Termorresistência (TTR) e avaliados quanto ao vigor e motilidade (fresco). O restante das amostras foi conservado a 4 °C por 2, 12, 24 e 48h e submetido ao TTR. Ao final de cada TTR, esfregaços do sêmen foram confeccionados para avaliação das possíveis alterações morfológicas causadas aos espermatozoides. O vigor, motilidade, Taxa da Degradação da Motilidade (TDM) e as alterações morfológicas foram submetidos à ANOVA (SAS 8.0) e em caso de diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A qualidade espermática diminuiu com o prolongamento do tempo de conservação do sêmen ($p < 0,05$). Na primeira etapa, o sêmen não lavado do grupo I obteve melhores resultados que o sêmen submetido à lavagem, enquanto no grupo II, este procedimento melhorou a qualidade do sêmen. O efeito da troca de plasma seminal entre os grupos experimentais só é benéfico em animais que apresentam baixa concentração inicial de frutose. Concluiu-se que concentração inicial de frutose no plasma seminal é um indicativo de obtenção de boa qualidade espermática após resfriamento a 4 °C. Recomenda-se a lavagem prévia do sêmen de caprinos com baixa concentração de frutose no plasma seminal antes do resfriamento.

Palavras-chave: reprodução animal; *Capra hircus*; conservação do sêmen, plasma seminal, bioquímica.

Abstract: The aim of this study was to evaluate the influence of the initial concentration of fructose in goat seminal plasma on sperm quality. Six goats were used and divided into two experimental groups according to the initial concentration of fructose in seminal plasma: group I (> 710mg/dL) and group II (< 480mg/dL). The experiment was carried out in two stages: in the first, the effect of previous semen washing on sperm quality was tested. In the second stage, the exchange of seminal plasma between the animals of the two groups was carried out. Soon after dilution, the experimental samples from both stages were submitted to the Thermoresistance Test (TTR) and evaluated for vigor and motility (fresh). The remaining samples were stored at 4 °C for 2, 12, 24 and 48 hours and submitted to TTR. At the end of each TTR, semen smears were made to assess possible morphological changes caused to sperm. Vigor, motility, Motility Degradation Rate (MDT) and morphological changes were submitted to ANOVA (SAS 7.0) and in case of significant difference, means were compared by Tukey test ($p < 0.05$). Sperm quality decreased with prolonged semen conservation time ($p < 0.05$). In the first stage, the unwashed semen in group I obtained better results than the semen submitted to washing, while in group II, this procedure improved the quality of the semen. The effect of the exchange of seminal plasma between the experimental groups is only beneficial in animals that have a low initial concentration of fructose. It is concluded that the initial concentration of fructose in seminal plasma is indicative of obtaining good sperm quality after cooling to 4 °C. It is recommended to wash the semen of goats with a low concentration of fructose in the seminal plasma before cooling.

Keywords: animal reproduction, *Capra hircus*, semen conservation, seminal plasma, biochemistry.

INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) com sêmen de machos selecionados e testados é fundamental para programas de melhoramento genético, pois permite a disseminação de genes desejáveis dentro de um rebanho. No entanto, os protocolos de criopreservação do sêmen caprino ainda necessitam de ajustes para a obtenção de sêmen congelado de boa qualidade (YODMINGKMAN *et al.*, 2016). Esse aspecto tem implicado que há necessidade de maior empenho em identificar os gargalos que entram a obtenção de sêmen caprino congelado com qualidade desejável (DORADO *et al.*, 2010; GANGWAR *et al.*, 2016; LONGOBARDI *et al.*, 2020).

Como alternativa viável ao sêmen criopreservado de caprinos, tem-se adotado, há algumas décadas, o uso de sêmen resfriado e conservado a 5 °C ou 15 °C (LEBOEUF *et al.*, 2008; MOCÉ *et al.*, 2020; SADEGHI *et al.*, 2020). O processo de resfriamento do sêmen tem como vantagem conferir redução da taxa de metabolismo espermático, contribuindo assim para aumentar a longevidade das células germinativas (AHMAD *et al.*, 2015). No entanto, tem como desvantagem a rápida deterioração da qualidade seminal por ocasionar danos irreparáveis nas células espermáticas (WHITE, 1993), o que limita o tempo de conservação do sêmen (MOCÉ *et al.*, 2020). Nesse sentido, o sêmen resfriado tem menor qualidade seminal que o sêmen fresco (AGUIAR *et al.*, 2013), reduzindo, portanto, a habilidade fertilizante dos espermatozoides (PETERSON *et al.*, 2007).

O plasma seminal caprino tem agentes que promovem a redução da viabilidade espermática, pois há relatos que alguns fatores alteram a integridade das células espermáticas durante a ejaculação (YAMASHIRO *et al.*, 2006). Para minimizar os efeitos deletérios do plasma seminal em caprinos, preconizou-se a lavagem do sêmen fresco, pois esse procedimento reduz os efeitos negativos sobre a sobrevivência espermática (CAMPOS *et al.*, 2004; NUNES *et al.*, 1982; VIANA *et al.*, 2006).

Em estudos anteriores, realizados com garanhões, foi possível observar que a adição de plasma seminal de diferentes animais afetou a resistência dos espermatozoides em suportar o processo de congelamento e descongelamento (AURICH *et al.*, 1996). Indo de acordo com o exposto, AKCAY *et al.* (2006), ao trabalharem com a inclusão de 20% de plasma seminal, constataram uma melhora na qualidade espermática após a descongelamento.

Apesar da grande variabilidade e complexidade das substâncias presentes no plasma seminal, o conhecimento sobre a função específica de cada uma delas ainda é limitado (JUYENA; STELLETTA, p. 536-551, 2012). Dentre os constituintes do plasma seminal, encontra-se a frutose,

que é a principal fonte de energia para os espermatozoides (KIERSZENBAUM, 2004; MANN, 1946), que utilizam a via glicolítica convencional, como as outras células (FU *et al.*, 2019; HARRISON, 1971). No entanto, o espermatozoide também pode utilizar igualmente a glicose ou a manose, porque esses açúcares entram no ciclo da glicólise por meio da reação da hexoquinase com o ATP, seguida pela formação do monofosfato hexose até ácido láctico (KING *et al.*, 2006; MUKAI; OKUNO, 2004).

Acredita-se que a concentração inicial de frutose no plasma seminal reflita-se sobre a qualidade de conservação do sêmen. Neste contexto, o presente estudo objetivou avaliar se a concentração inicial de frutose no plasma seminal de caprinos pode ser utilizada como parâmetro na análise de qualidade na conservação do sêmen no estado líquido (resfriado). Outro objetivo, foi verificar se a troca de plasma seminal entre os animais de alta (> 710 mg/dL) e de baixa (< 480 mg/dL) concentração inicial de frutose alteram a qualidade seminal durante a conservação a 4°C de 0, 2, 12, 24 e 48 horas.

MATERIAL E MÉTODOS

Local dos experimentos.

Dois experimentos foram conduzidos no Laboratório de Estudos em Reprodução Animal (LERA), no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará (Fortaleza, Ceará, Brasil), 3°45'02'' de latitude sul, 38°32'35'' de longitude oeste e 15,5 m acima do nível do mar. O clima local é quente e úmido, AW, de acordo com a classificação de Koppen. Durante o período experimental a temperatura média foi de 27,7 °C, com amplitude de 24,6 a 30,3 °C, umidade relativa do ar de 83,5% e precipitação média de 264,1 mm (FUNCEME/Campus do Pici, 2007).

Seis machos caprinos, sem padrão racial definido (SPRD), com média de 32 ± 5,4 meses de idade e peso médio de 45 ± 4,2 Kg foram divididos em dois grupos, de acordo com a concentração de frutose no plasma seminal (PS): [grupo I (>710 mg/dL) e grupo II (< 480 mg/dL)]. Cada grupo experimental foi constituído de três animais. Os animais foram alocados em baias individuais, arraçoados com feno de Tifton 85 (*Cynodon dactylum*) e concentrado energético (250 g/ animal/dia) adicionado de sal mineral, seguindo as especificações do NRC (1981) para caprinos. A água foi fornecida *ad libitum*.

Os ejaculados foram obtidos em vagina artificial com auxílio de uma fêmea em estro. Após a coleta, o volume do ejaculado foi precisamente determinado com utilização de micropipeta automática e a concentração espermática foi determinada por espectrofotometria (Spectrophotometer SP M05 Bel® Photonics). Em seguida, o sêmen foi diluído em solução à base de água de coco *in natura* [50mL de água de coco - idade média de seis meses, 50 mL 2,5% solução de citrato de sódio e 2,5% de gema de ovo (v / v) em 100 mL de água destilada q.s.p.] (NUNES, 1998), a uma concentração final de 200 x 10⁶ espermatozoides/ mL, conforme descrito por CAMPOS *et al.* (2004).

Em seguida foram realizados dois experimentos, a saber:

Experimento 1

Nesse experimento, o sêmen diluído foi dividido em duas alíquotas iguais. Uma alíquota constituiu o tratamento controle, enquanto a outra foi lavada para remoção do plasma seminal conforme descrito por CAMPOS *et al.* (2004). Amostras de 250 µL do tratamento controle e do sêmen lavado foram imediatamente submetidas ao teste de termorresistência (TTR) conforme descrito por CHEMINEAU *et al.* (1991). O restante do sêmen diluído, controle e lavado, foram

resfriados 4 °C e conservados por até 48 horas. Estas amostras também foram avaliadas pelo TTR após 2, 12, 24 e 48 horas de conservação. As amostras de sêmen fresco (T0) e refrigeradas foram incubadas a 37 °C em banho-maria, e analisadas quanto ao vigor e a motilidade aos 5, 60 e 120 minutos de incubação. Estas análises foram realizadas com o auxílio de um microscópio óptico (Olympus CX40, Japão) com aumento de 10x. Após a realização de cada TTR a taxa de degradação da motilidade (TDM) foi calculada, utilizando a seguinte fórmula (CHEMINEAU *et al.*, 1991):

$$\text{TDM} = \frac{\text{Vigor (5 min)} - \text{Vigor (120 min)}}{\text{Vigor (5 min)}} \times 100$$

Esfregaços de sêmen foram confeccionados ao final de cada TTR. Estes foram corados com azul de bromofenol e 200 células espermáticas, por lâmina, foram observadas em microscópio óptico com aumento de 1.000x. A morfologia espermática foi classificada em defeitos de cabeça, defeitos de peça intermediária, defeitos de flagelo, presença de gota citoplasmática proximal e distal (COLAS, 1980) e as alterações morfológicas totais, que representaram o somatório de todas as alterações citadas anteriormente.

Experimento 2

Neste experimento, realizou-se a troca de PS entre os grupos I e II.

Para que o PS dos animais do grupo II fosse substituído pelo PS do grupo I, houve a coleta prévia dos ejaculados dos animais do grupo I, ou seja, os ejaculados desses animais foram centrifugados a 2.500g/ 20 min (centrífuga refrigerada) para obtenção do plasma seminal puro. Desse modo, o plasma foi pipetado (sobrenadante) e reservado por no máximo 30 minutos. Em seguida, os ejaculados dos animais do grupo II foram coletados, diluídos e divididos em duas alíquotas, conforme descrito na primeira parte da metodologia.

A primeira alíquota constituiu o tratamento controle e a segunda alíquota foi lavada, conforme descrito para o experimento 1. Entretanto, o diluidor não foi adicionado novamente, de forma que restou um pellet de espermatozoides (precipitado) no tubo de ensaio. Desse pellet espermático do grupo II, retirou-se uma amostra de 45 µL e ao mesmo foi adicionado 55 µL de PS dos animais do grupo I. A adição de PS foi aleatória, ou seja, o PS de um dos animais do grupo I foi adicionado em apenas um animal do grupo II. Ambos os tratamentos, controle e com plasma

seminal trocado, foram diluídos, conservados e avaliados quanto ao vigor, motilidade, TDM e morfologia espermática conforme o protocolo descrito no experimento 1.

Para que o PS dos animais do grupo I fosse substituído pelo do grupo II realizou-se procedimento similar ao anterior e as avaliações da qualidade seminal foram as mesmas.

Os dois experimentos tiveram seis repetições. Para a análise dos dados utilizou-se o programa estatístico SAS[®], versão 8.0. Os parâmetros seminais (vigor, motilidade e TDM) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para testar os efeitos de tempo de conservação, tratamento (controle e lavado), grupo experimental (I e II) e interação entre tratamentos e grupos. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). As variáveis motilidade e TDM sofreram transformação angular para atender à condição de normalidade.

RESULTADOS

Em ambos os experimentos foram observadas reduções significativas ($p < 0,05$) da qualidade seminal em virtude do prolongamento do tempo de conservação (Tabelas 1 e 2). O procedimento de lavagem do sêmen dos animais do grupo II (exp. 1) proporcionou melhores índices de vigor e motilidade ($p < 0,05$; tabela 1), já a partir do sêmen fresco. No entanto, no grupo I, o efeito positivo da lavagem do sêmen só pode ser verificado com 48 horas de conservação.

O efeito da troca de PS entre os grupos I e II (exp. 2) sobre o vigor só foi observado para o grupo II após 24h de conservação à 4°C ($p < 0,05$) que recebeu PS do grupo I. Em relação à motilidade, não houve efeito da troca de PS entre os grupos I e II.

No que se refere às AMT, em ambos os grupos, nenhuma influência do procedimento de lavagem do sêmen foi observada ($p > 0,05$; Tabela 1). O mesmo foi observado para o experimento 2, em que não se observou efeito da troca de PS nas alterações morfológicas.

Em ambos os experimentos, a TDM não foi influenciada pelo tempo de conservação ($p > 0,05$; Tabelas 1 e 2). No grupo II (exper.1), o procedimento de lavagem promoveu efeito positivo ($p < 0,05$), resultando em melhores índices no sêmen fresco e resfriado até 24 horas de conservação. Nenhuma influência de grupo (I e II) foi observada quando o procedimento de lavagem do sêmen foi realizado ($p > 0,05$; Tabela 1). Entretanto, quando a lavagem seminal não foi realizada (Controle), os valores foram melhores no grupo I do que no grupo II ($p < 0,05$). No grupo I, a adição do PS do grupo II aumentou os índices de TDM ($p < 0,05$; tabela 2), enquanto no grupo II não foi observado qualquer efeito da troca de PS ($p > 0,05$).

DISCUSSÃO

A redução da qualidade seminal em função do tempo de conservação também foi observada por outros autores (CAMPOS *et al.* 2003; 2004; HOLDEN *et al.* 2017; ISLAM *et al.* 2006). A sobrevivência espermática *in vitro* é menor, quanto mais longo for o tempo de conservação do sêmen, resultando em declínio na taxa de fertilidade *in vivo* (LEBOUEF *et al.*, 2003). Provavelmente, essa redução deve-se à diminuição da atividade metabólica dos gametas, como consequência da depleção dos nutrientes disponíveis, e acúmulo de substâncias tóxicas no meio de conservação, como por exemplo, o ácido láctico (ISLAM *et al.*, 2006; VISHWANATH & SHANNON, 2000).

No presente estudo, o procedimento de lavagem do sêmen caprino não promoveu melhora na qualidade seminal quando os animais apresentaram boa concentração inicial de frutose no PS (grupo I), mas o procedimento melhorou a qualidade seminal de animais com baixa concentração desse açúcar. Resultados similares foram relatados em outros estudos conduzidos sob condições similares (CAMPOS *et al.* 2004). Os autores sugeriram que o PS foi um fator negativo na conservação do sêmen, sugerindo que alguns componentes presentes no PS poderiam ter interagido com os constituintes do diluidor, possivelmente a gema de ovo, exercendo ação tóxica sobre os espermatozoides e interferindo, assim, na sobrevivência espermática. Os achados do estudo atual, também sugerem que, associado ao baixo nível de frutose, outros constituintes possam estar com a concentração alterada, podendo refletir negativamente sobre a qualidade espermática. Dentre estes constituintes encontram-se a fosfolipase A₂, que é secretada pela glândula bulbouretral e tem ação deletéria sobre os espermatozoides caprinos (Nunes, 1982). Em condições de clima temperado, a remoção (lavagem) do PS é recomendada para obtenção de boa qualidade seminal após o descongelamento (YUSOFF, 2011).

No grupo II (exper. 1), a lavagem resultou em melhores valores de vigor e motilidade. Esses achados sugerem que os efeitos deletérios do PS sobre os espermatozoides, foram amenizados pela rápida remoção do PS após a coleta do sêmen. Por outro lado, os resultados observados do grupo I indicam que o PS com alta concentração de frutose contribuiu positivamente para manutenção do vigor e da motilidade espermática, mesmo que este tenha sido removido logo após a coleta. WAY *et al.* (2000) afirmaram que a redução do período de exposição aos fluidos das glândulas anexas resultou em uma diminuição dos efeitos danosos do PS sobre os espermatozoides.

Contudo, estes autores não descartaram que os espermatozoides do ejaculado já foram expostos aos efeitos deletérios do PS.

No experimento atual, a concentração espermática, o diluidor e as condições de armazenamento nos dois grupos foram os mesmos, sugerindo que a taxa de frutólise tenha sido idêntica. Contudo, como no grupo II havia uma menor concentração inicial de frutose no PS, acredita-se que a depleção de frutose ocorreu mais precocemente, efeito que se refletiu sobre o vigor e a motilidade a partir de 24 e 48 horas de conservação, respectivamente. Segundo MANN (1946), a taxa de frutólise no sêmen conservado a 5 °C após 1 h é de 4%, todavia, após incubação de 30 a 37 °C é de 96%, ou seja, o desaparecimento da frutose ocorre em questão de horas. Segundo o mesmo autor, somente quando os espermatozoides depletam a reserva de açúcar do PS, o efeito benéfico da adição exógena de açúcar torna-se mais aparente (glicose, frutose ou manose).

A troca de PS entre os dois grupos de animais não afetou significativamente os parâmetros seminais, demonstrando que os espermatozoides já haviam sofrido a ação deletéria ou benéfica do PS no momento da ejaculação. YAMASHIRO *et al.* (2006) sugeriram que as características funcionais dos espermatozoides são abruptamente modificadas pelo rápido contato dos espermatozoides com os fluidos das glândulas acessórias na ejaculação. De acordo com os resultados encontrados neste experimento, acredita-se que o PS do grupo I teve efeito de diminuir as ações deletérias do PS do grupo II. Essa observação pode ser confirmada analisando as diferenças encontradas entre os resultados dos grupos controle, I e II, pois os menores parâmetros foram constatados no grupo II. Desse modo, a adição posterior do PS do grupo I aos espermatozoides do grupo II minimizou a deterioração dos parâmetros avaliados. Entretanto, mais estudos devem ser conduzidos para elucidar estes aspectos, sugerindo a adição de PS aos espermatozoides epididimários, visto que os mesmos ainda não sofreram efeito do PS.

Os resultados encontrados neste experimento sugerem que a frutose pode não ser o constituinte mais importante do plasma seminal de caprinos, mas ela pode estar associada a outros componentes que são essenciais para obtenção de uma melhor qualidade seminal. Dessa forma, a concentração de frutose no PS é indicativa da qualidade espermática *in vitro*.

CONCLUSÕES

A concentração inicial de frutose no PS de caprinos refletiu-se sobre a qualidade de conservação do sêmen resfriado, tendo em vista que os melhores parâmetros foram observados nas amostras com maiores concentrações de frutose. Dessa forma, em animais com baixo nível de frutose no PS, recomenda-se a lavagem prévia do sêmen, para que seja obtida melhora na qualidade espermática durante a conservação do sêmen caprino a 4°C. A troca de PS entre os animais com baixa e alta concentração de frutose no PS não afetou a qualidade do sêmen.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, G. V. et al. Sperm parameters and biochemical components of goat seminal plasma in the rainy and dry seasons in the Brazilian Northeast: the season's influence on the cooling of semen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p. 6-12, 2013.

AHMAD, Mushtaq; NASRULLAH, Rashad; AHMAD, Nasim. Effect of cooling rate and equilibration time on pre-freeze and post-thaw survival of buck sperm. **Cryobiology**, v. 70, n. 3, p. 233-238, 2015.

AKCAY, E. et al. Effect of seminal plasma fractions on stallion sperm survival after cooled storage. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, v. 53, n. 9, p. 481-485, 2006.

AURICH, J. E.; KÜHNE, A.; HOPPE, H.; AURICH, C. Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation. *Theriogenology*, v.46, p.791-797, 1996.

CAMPOS, A. C. N. et al. Conservação do sêmen caprino a 4°C durante o período seco e chuvoso no Nordeste do Brasil. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 27, p. 620-624, 2003.

CAMPOS, Ana Cláudia Nascimento et al. Viabilidade do sêmen caprino lavado e não lavado diluído em água de coco, resfriado e armazenado a 4°C. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 11, n. 3, 2004.

COLAS, G.; GUERIN, Y. Variations saisonnières de la qualité du sperme chez le bélier Ile-de-France. I. Etude de la morphologie cellulaire et de la motilité massale. **Reproduction Nutrition Développement**, v. 20, n. 6, p. 1789-1799, 1980.

CHEMINEAU, P. ET AL. REPRODUCTION DES CAPRINS ET DES OVINS CRÉOLE DE GUADELOUPE ET DE MARTINIQUE. **REVUE D'ÉLEVAGE ET DE MÉDECINE VÉTÉRINAIRE DES PAYS TROPICAUX**, v. 44, N. SPECIAL, P. 45-50, 1991.

DORADO, J.; MUNOZ-SERRANO, A.; HIDALGO, M. The effect of cryopreservation on goat semen characteristics related to sperm freezability. **Animal reproduction science**, v. 121, n. 1-2, p. 115-123, 2010.

FU, Longlong et al. Glycolysis metabolic changes in sperm cryopreservation based on a targeted metabolomic strategy. **International journal of clinical and experimental pathology**, v. 12, n. 5, p. 1775, 2019.

GANGWAR, Chetna et al. Cryopreservation of goat semen: status and prospects. **Indian Journal of Small Ruminants**, v. 22, n. 1, p. 1-10, 2016.

HARRISON, R. A. P. GLYCOLYTIC ENZYMES IN MAMMALIAN SPERMATOZOA. ACTIVITIES AND STABILITIES OF HEXOKINASE AND PHOSPHOFRUCTOKINASE IN VARIOUS FRACTIONS FROM SPERM HOMOGENATES. **BIOCHEMICAL JOURNAL**, v. 124, N. 4, P. 741-750, 1971.

- HOLDEN, Shauna A. et al. Effect of seminal plasma from high-and low-fertility bulls on cauda epididymal sperm function. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 29, n. 12, p. 2457-2465, 2017.
- JUYENA, Nasrin S.; STELLETTA, Calogero. Seminal plasma: an essential attribute to spermatozoa. **Journal of andrology**, v. 33, n. 4, p. 536-551, 2012.
- ISLAM, Rafiqul; AHMED, K.; DEKA, B. C. Effect of holding and washing on the quality of goat semen. **Small Ruminant Research**, v. 66, n. 1-3, p. 51-57, 2006.
- KIERSZENBAUM, A. A maturação e transporte dos espermatozoides. IN: KIERSZENBAUM, A. *Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia*. 1ª ed. Editora Elsevier, Rio de Janeiro – RJ, p. 583-597, 2004.
- KING, Sheryl S. et al. Equine spermatozoal motility and fertility associated with the incorporation of d-(+)-mannose into semen extender. **Theriogenology**, v. 65, n. 6, p. 1171-1179, 2006.
- LEBOEUF, Bernard; RESTALL, B.; SALAMON, S. Production et conservation de la semence de bouc pour l'insémination artificielle. 2003.
- LEBOEUF, Bernard et al. Management of goat reproduction and insemination for genetic improvement in France. **Reproduction in domestic animals**, v. 43, p. 379-385, 2008.
- LONGOBARDI, Valentina et al. Crocin improves the quality of cryopreserved goat semen in different breeds. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 1101, 2020.
- MUKAI, Chinatsu; OKUNO, Makoto. Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. **Biology of reproduction**, v. 71, n. 2, p. 540-547, 2004.
- MANN, T. Studies on the metabolism of semen: 3. Fructose as a normal constituent of seminal plasma. Site of formation and function of fructose in semen. **Biochemical journal**, v. 40, n. 4, p. 481, 1946.
- MIRÓ, JORDI ET AL. PRESERVATION OF EPIDIDYMAL STALLION SPERM IN LIQUID AND FROZEN STATES: EFFECTS OF SEMINAL PLASMA ON SPERM FUNCTION AND FERTILITY. **JOURNAL OF EQUINE VETERINARY SCIENCE**, v. 88, p. 102940, 2020.
- MOCÉ, EVA ET AL. EFFECT OF THE REFRIGERATION SYSTEM ON IN VITRO QUALITY AND IN VIVO FERTILITY OF GOAT BUCK SPERM. **ANIMALS**, v. 10, n. 12, p. 2399, 2020.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirement of domestic animals: nutrient requirement of goats. Washington, D.C.: National Academic Press, 1981. 91p.
- NUNES, J. F. **Étude des effets du plasma seminal sur la survie in vitro dès espermatozoïdes de bouc**. Paris. **Université Paris VI**. 1982. Tese de Doutorado. Tese (Ciências da Vida). 45pag.
- PETERSON, K. M. A. P. et al. Microscopic and flow cytometric semen assessment of Dutch AI-bucks: Effect of semen processing procedures and their correlation to fertility. **Theriogenology**, v. 67, n. 4, p. 863-871, 2007.

SADEGHI, Sara et al. Effect of sperm concentration and storage temperature on goat spermatozoa during liquid storage. **Biology**, v. 9, n. 9, p. 300, 2020.

VIANA, Ana Karina Saraiva et al. Avaliação in vitro do sêmen caprino resfriado, com ou sem centrifugação do plasma seminal e diluído em leite desnatado-glicose e tris-gema de ovo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 1, p. 67-76, 2006.

VISHWANATH, R.; SHANNON, P. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. **Animal reproduction science**, v. 62, n. 1-3, p. 23-53, 2000.

WAY, Amy L.; GRIEL JR, LESTER C.; KILLIAN, Gary J. Effects of accessory sex gland fluid on viability, capacitation, and the acrosome reaction of cauda epididymal bull spermatozoa. **Journal of andrology**, v. 21, n. 2, p. 213-219, 2000.

WHITE, I. G. Lipids and calcium uptake of sperm in relation to cold shock and preservation: a review. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 5, n. 6, p. 639-658, 1993.

YAMASHIRO, Hideaki et al. Effect of semen collection in extender solution on the characteristics of goat spermatozoa. **Journal of Reproduction and Development**, p. 0603130025-0603130025, 2006.

YODMINGKWAN, Phakatip et al. Effects of extenders on fresh and freezing semen of boer goat. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 11, p. 125-130, 2016.

YUSOFF, Rosnina et al. Effect of seminal plasma removal, washing solutions, and centrifugation regimes on Boer goat semen cryopreservation. **Pertanika J. Trop. Agric. Sci**, v. 34, n. 2, p. 271-279, 2011.

Tabela 1 – Média e desvio padrão dos parâmetros espermáticos do sêmen caprino lavado e não lavado, com alta ou baixa concentração de frutose no plasma seminal (experimento I)..

Tempo de conservação (horas)	Grupo I (> 710mg/dL)		Grupo II (< 480mg/dL)	
	Controle	Lavado	Controle	Lavado
	Vigor (0 a 5)			
0	2,75 ± 0,49 ^a	2,86 ± 0,43 ^a	2,35 ± 0,79 ^{aB}	2,92 ± 0,32 ^{aA}
2	2,66 ± 0,53 ^{ab}	2,81 ± 0,43 ^a	2,33 ± 0,70 ^{aB}	2,94 ± 0,35 ^{aA}
12	2,48 ± 0,75 ^{ab1}	2,70 ± 0,56 ^a	1,98 ± 1,00 ^{aB2}	2,80 ± 0,44 ^{abA}
24	2,30 ± 0,80 ^{bc1}	2,49 ± 0,69 ^{ab}	1,58 ± 1,06 ^{bB2}	2,54 ± 0,57 ^{abA}
48	2,04 ± 0,80 ^{c1}	2,21 ± 0,79 ^b	1,34 ± 1,17 ^{cB2}	2,22 ± 0,64 ^{bcA}
Motilidade (0 a 100%)				
0	67,35 ± 12,24 ^a	69,09 ± 8,74 ^a	61,88 ± 17,47 ^{aB}	73,96 ± 5,58 ^{aA}
2	65,76 ± 12,86 ^{ab}	68,94 ± 9,03 ^a	58,26 ± 15,80 ^{aB}	72,36 ± 7,12 ^{aA}
12	60,68 ± 18,33 ^{abc}	66,36 ± 11,26 ^a	52,78 ± 21,64 ^{aB}	70,76 ± 8,40 ^{aA}
24	57,35 ± 19,59 ^{bc1}	59,55 ± 16,40 ^{ab}	43,54 ± 26,51 ^{bB2}	65,35 ± 13,47 ^{aA}
48	52,12 ± 19,04 ^{c1}	54,39 ± 19,09 ^b	34,17 ± 29,75 ^{cB2}	57,71 ± 14,87 ^{bA}
Taxa de Degradação da Motilidade (0 a 100%)				
0	30,11 ± 27,03 ¹	24,43 ± 17,29	56,55 ± 37,30 ^{aB2}	23,69 ± 19,22 ^A
2	28,25 ± 26,32 ¹	25,11 ± 20,05	57,21 ± 37,30 ^{aB2}	25,76 ± 18,38 ^A
12	22,63 ± 32,35 ¹	22,75 ± 20,02	52,44 ± 38,19 ^{aB2}	28,01 ± 23,18 ^A
24	24,69 ± 20,10 ¹	22,29 ± 20,14	47,83 ± 40,48 ^{aB2}	28,00 ± 25,28 ^A
48	24,50 ± 29,08	21,67 ± 17,45	26,56 ± 25,15 ^b	30,50 ± 24,25
Alterações Morfológicas Totais (%)				
0	14,9 ± 7,0	20,0 ± 12,9 ^{a1}	11,9 ± 7,9 ^a	13,22 ± 8,7 ²
2	17,3 ± 9,9 ¹	18,7 ± 15,4 ^a	10,9 ± 7,1 ^{a2}	13,31 ± 9,5
12	13,9 ± 11,4	11,2 ± 3,9 ^b	12,3 ± 6,5 ^a	9,31 ± 3,4
24	12,4 ± 6,9	8,8 ± 4,1 ^b	10,1 ± 6,5 ^a	13,00 ± 7,1
48	13,6 ± 7,0 ¹	11,7 ± 5,4 ^b	7,7 ± 4,5 ^{b2}	14,72 ± 9,9

Letras minúsculas – comparação entre tempos, dentro do mesmo grupo e tratamento, na mesma coluna. Letras maiúsculas – comparação entre tratamentos, dentro do mesmo grupo, na mesma linha. Números - comparação entre grupos, dentro do mesmo tratamento, na mesma linha. (p < 0,05).

Tabela 2 – Média e desvio padrão dos parâmetros espermáticos do sêmen caprino lavado plasma seminal trocado, com alta ou baixa concentração de frutose no plasma seminal (experimento 2).

Tempo de conservação (horas)	Grupo I (> 710mg/dL)		Grupo II (< 480mg/dL)	
	Controle	Trocado	Controle	Trocado
	Vigor (0 a 5)			
0	2,64 ± 0,51 ^{a1}	2,38 ± 0,47 ^a	2,37 ± 0,73 ^{ab2}	2,60 ± 0,52 ^a
2	2,54 ± 0,57 ^a	2,33 ± 0,44 ^a	2,42 ± 0,62 ^a	2,57 ± 0,48 ^a
12	2,31 ± 0,81 ^{a1}	2,10 ± 0,55 ^{ab}	2,17 ± 0,82 ^{abc2}	2,48 ± 0,50 ^a
24	2,15 ± 0,88 ^{a1}	1,86 ± 0,77 ^{ab}	1,81 ± 0,93 ^{bcB2}	2,04 ± 1,04 ^{abA}
48	1,97 ± 0,86 ^{aA1}	1,55 ± 0,88 ^{bB}	1,56 ± 1,10 ^{c2}	1,57 ± 1,10 ^b
Motilidade (0 a 100%)				
0	65,83 ± 13,80 ^a	60,52 ± 9,30 ^a	64,69 ± 14,26 ^a	64,17 ± 11,05 ^a
2	64,16 ± 14,48 ^a	60,62 ± 9,75 ^a	62,08 ± 12,87 ^a	63,33 ± 10,61 ^a
12	57,81 ± 20,44 ^a	55,94 ± 14,26 ^a	58,96 ± 15,53 ^{ab}	61,88 ± 13,05 ^a
24	53,43 ± 21,45 ^a	47,50 ± 20,24 ^{ab}	49,06 ± 22,93 ^{ab}	50,52 ± 27,11 ^{ab}
48	50,21 ± 21,41 ^{aA1}	47,69 ± 29,42 ^{bB}	40,00 ± 28,18 ^{c2}	41,88 ± 28,17 ^b
Taxa de Degradação da Motilidade (0 a 100%)				
0	32,47 ± 29,10 ^{A1}	45,24 ± 28,05 ^B	50,00 ± 34,18 ²	47,99 ± 32,38
2	30,51 ± 29,19 ^{A1}	47,44 ± 29,02 ^B	50,10 ± 34,79 ²	48,27 ± 34,27
12	22,80 ± 23,37 ^{A1}	52,86 ± 33,42 ^B	49,04 ± 35,32 ²	48,66 ± 35,00
24	23,71 ± 22,76 ^{A1}	44,04 ± 28,77 ^B	45,56 ± 37,83 ²	44,76 ± 33,73
48	24,05 ± 25,53 ^A	47,69 ± 29,42 ^B	29,54 ± 19,89	38,61 ± 19,00
Alterações Morfológicas Totais (%)				
0	15,1 ± 8,2	12,9 ± 5,9 ^a	12,4 ± 9,1	8,8 ± 4,6
2	13,3 ± 4,2 ^A	7,5 ± 3,0 ^{Bbc}	9,5 ± 4,0	8,0 ± 5,1
12	14,5 ± 13,6	10,5 ± 7,2 ^{ab}	11,5 ± 6,2	9,2 ± 4,5
24	11,6 ± 6,9 ^A	7,7 ± 2,9 ^{Bab}	7,8 ± 2,7	11,6 ± 5,7
48	13,9 ± 8,1 ¹	8,6 ± 4,3 ^{ab}	8,8 ± 5,1 ²	13,2 ± 7,2