



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ICARO OLIVEIRA SOUSA

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO DILUIDOR SEMINAL COM D-RIBOSE
SOBRE OS PARÂMETROS CINÉTICOS DE ESPERMATOZOIDES OVINOS PÓS-
DESCONGELAMENTO

FORTALEZA

2026

ICARO OLIVEIRA SOUSA

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO DILUIDOR SEMINAL COM D-RIBOSE SOBRE
OS PARÂMETROS CINÉTICOS DE ESPERMATOZOIDES OVINOS PÓS-
DESCONGELAMENTO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Zootecnia do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial para a obtenção do
grau de Bacharelado em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Arlindo de Alencar Araripe
Noronha Moura

FORTALEZA

2026

ICARO OLIVEIRA SOUSA

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO DILUIDOR SEMINAL COM D-RIBOSE SOBRE
OS PARÂMETROS CINÉTICOS DE ESPERMATOZOIDES OVINOS PÓS-
DESCONGELAMENTO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Zootecnia do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial para a obtenção do
grau de Bacharelado em Zootecnia.

Aprovado em: 08/07/2026

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Arlindo de Alencar Araripe Noronha Moura (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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

Msc. Bruno Ramires Macedo Costa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

“Corra até não conseguir mais correr e depois volte a correr. O esforço constante é o maior atalho da vida.”
(Genji Kamogawa - Hajime No Ippo)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará, por ter me permitido seguir na área que eu gosto e por todas as oportunidades e experiências.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo apoio financeiro.

Aos meus familiares, que sempre me deram apoio e me mostraram que os estudos são importantes.

Ao meu pai, que nunca deixou faltar nada pra mim e para os meus irmãos, e por ser um exemplo de alegria e superação. O senhor me inspira a me tornar uma pessoa melhor, e obrigado por assistir comigo *Animal Planet*, quando eu era criança, isso me inspirou a seguir e escolher minha graduação.

À minha mãe, por sempre ser o meu exemplo de resiliência e dedicação. Você me inspirou a ser uma pessoa mais forte, e eu te entrego e dedico esses anos de trabalho duro à senhora.

À minha irmã, por ter me mostrado que eu tenho aptidão de cuidar e me dedicar aos animais.

À minhas queridas Lolita, Laura e Clara, por serem minhas pequenas velas que ajudaram a iluminar meu caminho durante toda essa vivência.

Ao professor Arlindo Moura, por me orientar no desenvolvimento do TCC e por permitir entrar em seu laboratório.

À professora Carla Renata, pelos ensinamentos durante a graduação, como aluno e monitor.

Ao Laboratório de Fisiologia Animal, que me permitiu seguir na área de reprodução e fisiologia animal, além de ter me permitido conhecer pessoas incríveis, como: Bruno, Eduardo, Flávia Teodósio, Ricarte, Samuel, Flávia Alessandra, Valdir, Iran e Natan.

Aos meus amigos de graduação, por me apoiarem em momentos difíceis e por me mostrarem que tudo ia ter um final feliz.

Ao meu grande amigo Gerald Patrício, pelos momentos de descontração e por mostrar que a vida pode ser leve e engraçada. Eu sempre serei grato por sua amizade.

À minha amada Ana Janete, por todos os momentos de suporte e de afeto que passamos juntos, além de me mostrar como ser uma pessoa melhor em todos os aspectos. Eu sempre vou te amar.

RESUMO

A criopreservação do sêmen ovino representa uma importante biotécnica para conservação e disseminação de material genético de elevado valor zootécnico. Entretanto, o processo de congelamento e descongelamento promove alterações estruturais e funcionais nos espermatozoides, comprometendo principalmente a motilidade e o potencial fertilizante. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação do diluidor seminal com D-ribose sobre os parâmetros cinéticos de espermatozoides ovinos após a criopreservação. Foram utilizados ejaculados de 14 carneiros da raça Morada Nova, distribuídos em quatro tratamentos: controle (sem suplementação) e suplementação com 150, 300 e 600 µg/mL de D-ribose. Após o descongelamento, os parâmetros cinéticos foram avaliados por análise computadorizada do sêmen (CASA). A suplementação com D-ribose influenciou positivamente a motilidade espermática, sendo a concentração de 150 µg/mL responsável pelos maiores valores de motilidade total e progressiva, além da redução da porcentagem de espermatozoides imóveis. A concentração de 600 µg/mL promoveu aumento das velocidades retilínea (VSL) e média da trajetória (VAP), enquanto os demais parâmetros cinéticos não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Conclui-se que a suplementação do diluidor seminal com D-ribose, especialmente na concentração de 150 µg/mL, melhora a qualidade cinética do sêmen ovino pós-descongelamento, demonstrando potencial como aditivo em protocolos de criopreservação espermática.

Palavras-chave: Biotecnologia reprodutiva; crioprotetor; fertilidade animal, ruminante.

ABSTRACT

Cryopreservation of ram semen is an important reproductive biotechnology for preserving and disseminating valuable genetic material. However, the freezing and thawing process causes structural and functional damage to sperm cells, compromising motility and fertilizing potential. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of supplementing a semen extender with D-ribose on the kinetic parameters of cryopreserved ram spermatozoa. Semen samples from fourteen Morada Nova rams were assigned to four treatments: control (without supplementation) and supplementation with 150, 300, and 600 µg/mL of D-ribose. After thawing, sperm kinetic parameters were evaluated using Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA). D-ribose supplementation positively affected sperm motility, with the 150 µg/mL concentration providing the highest total and progressive motility values and reducing the percentage of immotile spermatozoa. The 600 µg/mL treatment increased straight-line velocity (VSL) and average path velocity (VAP), whereas no significant differences were observed for the remaining kinetic parameters. In conclusion, supplementation of the semen extender with D-ribose, particularly at a concentration of 150 µg/mL, improves the post-thaw kinetic quality of ram sperm, demonstrating its potential as an additive for semen cryopreservation protocols.

Keywords: Reproductive biotechnology; cryoprotectants; animal fertility; ruminant.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** . Ilustração dos detalhes cinemáticos avaliados pelo AndroScope[®] retirado do Technical Report da Minitube. 15
- Figura 2.** Parâmetros cinéticos de motilidade de espermatozoides ovinos descongelados criopreservados em diluidor controle ou suplementado com D-ribose (150, 300 e 600 µg/mL). (A) Motilidade total; (B) Motilidade progressiva; (C) Espermatozoides imóveis. Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para cada tratamento, os valores representam a média ($\pm$ EPM) obtida a partir dos ejaculados coletados durante o período experimental. 17
- Figura 3.** Subpopulações de motilidade de espermatozoides ovinos descongelados criopreservados em diluidor controle ou suplementado com D-ribose (150, 300 e 600 µg/mL). (A) Motilidade rápida; (B) Motilidade lenta; (C) Motilidade circular; (D) Motilidade local. Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para cada tratamento, os valores representam a média ($\pm$ EPM) obtida a partir dos ejaculados coletados durante o período experimental. 18
- Figura 4.** Parâmetros cinéticos de espermatozoides ovinos descongelados criopreservados em diluidor controle ou suplementado com D-ribose (150, 300 e 600 µg/mL). (A) Velocidade retilínea (VSL); (B) Velocidade média da trajetória (VAP). Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para cada tratamento, os valores representam a média ($\pm$ EPM) obtida a partir dos ejaculados coletados durante o período experimental. 19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros cinéticos de espermatozoides ovinos descongelados criopreservados em diluidor controle ou suplementado com D-ribose (150, 300 e 600 µg/mL). Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média (EPM).....	19
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 Comitê de ética, local e animais experimentais	13
2.2 Diluidor e tratamentos	13
2.3 Coleta e processamento do sêmen	13
2.4 Criopreservação seminal.....	14
2.5 Cinética espermática	14
2.6 Análise estatística	16
3 RESULTADOS	17
4 DISCUSSÃO	21
5 CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

A criopreservação do sêmen é uma importante biotécnica reprodutiva para a conservação de material genético, mas sua utilização pode ser limitada em carneiros, visto que as células espermáticas desta espécie são particularmente sensíveis aos danos térmicos e osmóticos ocasionados pelo processo de congelamento e descongelamento (ALLAI *et al.*, 2018). Durante a criopreservação, os espermatozoides são submetidos à estresse físico e químico, que resulta em alterações na estrutura da membrana espermática, danos ao acrossoma e ao DNA espermático (Bustani *et al.*, 2021). No entanto, esse processo impõe desafios à fisiologia espermática, resultando em crioinjúrias que comprometem a motilidade, a integridade das membranas e a capacidade fecundante (Saha *et al.*, 2022). Entre os principais desafios, destaca-se o estresse oxidativo, decorrente do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade oxidante do meio, o que leva à peroxidação lipídica, visto que membrana espermática dessas células possui em sua composição uma maior presença de ácidos graxos poli-insaturados (Banday *et al.*, 2017), e fragmentação do DNA (Soria-Meneses *et al.*, 2025; Jurado Campos *et al.*, 2023).

Como estratégia de mitigar os danos ocasionados pelo congelamento e descongelamento, a escolha do diluidor seminal e da sua composição são determinantes para o êxito da criopreservação. Tradicionalmente, açúcares como a glicose ou a frutose são adicionados aos diluidores por atuarem como substratos energéticos e auxiliarem na manutenção do equilíbrio osmótico durante o processamento seminal (Lapwood *et al.*, 1966). No entanto, além dos açúcares convencionalmente utilizados, compostos alternativos vêm sendo investigados como suplementos capazes de contribuir não apenas para o metabolismo energético, mas também para a proteção celular durante a criopreservação (Panyaboriban *et al.*, 2015). Nesse contexto, a D-Ribose surge como uma molécula de interesse, uma vez que participa da estrutura dos nucleotídeos e pode contribuir para a síntese de ATP e NADPH por meio da via das pentoses-fosfato, processo relacionado tanto ao metabolismo energético quanto ao suporte antioxidante celular (Mahoney *et al.*, 2018; Chigrinskiy *et al.*, 2011). Visto isso, a esse monossacarídeo atua sustentando vias metabólicas para a manutenção da homeostase redox da célula (TeSlaa *et al.*, 2023).

Em touros Guzerá, Pessoa *et al.* (2023) observaram maior abundância de D-Ribose no plasma seminal de animais classificados com boa congelabilidade espermática, os quais apresentaram melhores parâmetros seminais pós-descongelamento em comparação aos touros de baixa congelabilidade. Esses achados sugerem uma possível associação entre a D-ribose e a

maior criotolerância espermática, reforçando a hipótese de que esse monossacarídeo possa ser explorado como adjuvante em diluidores seminais. Outros estudos metabolômicos indicam que a abundância de D-ribose no plasma seminal está positivamente correlacionada com a motilidade e à manutenção na estabilidade da membrana (Pang *et al.*, 2025). Ademais, a combinação de D-Ribose com outros agentes protetores, como a L-Cisteína, tem demonstrado um potente efeito mitigador contra danos testiculares e redução da motilidade induzida por agentes tóxicos (Adelakun, *et al.*, 2021; Falana *et al.*, 2017), reforçando a ação antioxidante dessa molécula.

Apesar do potencial da D-Ribose em fornecer energia e suporte no sistema antioxidante, seu uso específico para mitigar os efeitos do congelamento de sêmen ainda é pouco explorado. A literatura indica que a otimização dos protocolos de criopreservação deve focar na estabilização das propriedades biológicas da célula, incluindo a motilidade e a integridade acrossomal (Bustani *et al.*, 2021a; Shehab-El-Deen *et al.*, 2023). Logo, o uso de compostos que possam simultaneamente servir como substrato energético e protetor celular, como a D-Ribose, representa um avanço para a proteção celular e seu potencial fertilizante (Addis *et al.*, 2012; Mega Obukohwo *et al.*, 2024). Levando em consideração a necessidade de melhorar os parâmetros do sêmen ovino após o descongelamento e as vantagens já mencionadas da D-Ribose em modelos animais (Ogunlade *et al.*, 2021; Qiu *et al.*, 2025), este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de D-Ribose ao diluidor seminal sobre a cinética espermática após o processo de criopreservação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Comitê de ética, local e animais experimentais

O experimento foi avaliado e aprovado de acordo com os princípios éticos para experimentação animal pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará (CEUA–UECE), sob o número de protocolo 08148149/2023. O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará (3,7427°S; 38,5785°W). Foram utilizados 14 carneiros deslanados da raça Morada Nova, vermifugados e mantidos em baias coletivas de 13 m², sendo arraçoados com feno de Tifton (*Cynodon dactylon*) e concentrado formulado para atender 12% de proteína bruta, de acordo com as recomendações do BR-Caprinos e Ovinos (2024) para machos inteiros em manutenção, com acesso a água *ad libitum*.

2.2 Diluidor e tratamentos

Para suplementação foi utilizada a D-(–)-ribose (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA; produto R7500), apresentando grau de pureza $\geq 99\%$. Para a suplementação experimental, a D-Ribose foi previamente dissolvida em água Mili-Q, homogeneizada até completa dissolução, e em seguida, foram preparadas alíquotas, que foram armazenadas a -20 °C até o momento de sua utilização.

A fim de determinar possíveis concentrações de D-Ribose para a criopreservação, foi utilizado o diluidor (Optidux®, Reprodex Inc., São Paulo, Brazil) suplementado com diferentes níveis de inclusão de D-Ribose. Realizou-se um experimento-teste anterior ao experimento principal, no qual foram realizadas duas coletas de sêmen de sete carneiros escolhidos aleatoriamente, e as amostras foram processadas individualmente e congeladas com as seguintes concentrações: 150, 300, 450, 600 e 1200 µg/mL. A motilidade total pós-descongelamento foi avaliada por análise computadorizada de sêmen (AndroScope, Minitube, Alemanha). As concentrações na faixa de 150, 300 e 600 µg/mL para D-Ribose mantiveram a motilidade total melhor do que outras concentrações e foram escolhidas para o experimento principal, realizado usando 14 carneiros.

2.3 Coleta e processamento do sêmen

Foram coletados ejaculados de 14 animais duas vezes por semana, com intervalo de três dias entre as coletas, durante um período de duas semanas, utilizando vagina artificial específica para pequenos ruminantes (IMV Technologies, França), aquecida entre 39 a 42 °C, e uma fêmea previamente condicionada como manequim. O sêmen fresco foi mantido em banho-maria a 37

°C e, a partir de cada ejaculado, foram retiradas alíquotas de 40 µL, sendo imediatamente diluídas em 2 mL das seguintes soluções, previamente equilibradas a 37 °C: (C) diluidor sem suplementação (controle); (R1) diluidor suplementado com 150 µg/mL de ribose; (R2) diluidor suplementado com 300 µg/mL de ribose; e (R3) diluidor suplementado com 600 µg/mL de ribose.

Além disso, o sêmen fresco foi diluído em Optidux e utilizado para analisar os parâmetros cinéticos por meio do sistema CASA, com o objetivo de identificar se os animais estariam aptos ao congelamento.

2.4 Criopreservação seminal

Após as diluições, as amostras foram envasadas em palhetas francesas de 0,25 mL (IMV Technologies, França), devidamente identificadas e seladas com álcool polivinílico. Em seguida, as palhetas foram alocadas em um congelador automatizado portátil de sêmen e/ou embriões, modelo CRYOGEN HSE 750, versão 4.0 (NeoVet, Minas Gerais, Brasil), conforme protocolo previamente estabelecido pelo grupo de pesquisa (Almeida *et al.*, 2026). A criopreservação iniciou com uma rampa positiva a 37 °C, ajustada para resfriar a uma taxa de 0,3 °C/min até atingir 4 °C, permanecendo em estabilização por 240 min. Em seguida, iniciou-se a rampa negativa, com decréscimo de 10 °C/min até alcançar -20 °C, seguida de um decréscimo com taxa de -20 °C/min até atingir -110 °C. Ao final desse processo, as palhetas foram submersas em nitrogênio líquido a -196 °C e armazenadas em botijão criogênico até o momento do descongelamento.

2.5 Cinética espermática

Para a avaliação do sêmen descongelado, as palhetas foram imersas em banho-maria a 37 °C por 30 s uma por vez (Almeida *et al.*, 2026). Em seguida, os parâmetros cinéticos (Figura 1) foram avaliados utilizando o mesmo sistema CASA. Foram descongeladas três palhetas para cada animal submetido aos diferentes tratamentos em quatro coletas distintas, totalizando 672 palhetas descongeladas. As análises foram realizadas considerando as configurações do software, no qual a calibração limiar de detecção de 17, calibração espacial de 0,55 µm/pixel e altura de câmara de 20 µm. Durante a avaliação, foram considerados válidos apenas espermatozoides com área celular entre 10 e 80 µm². Foram analisados três campos por ejaculado, com a espécie ajustada para pequenos ruminantes e taxa de diluição de 1:100.

Foram avaliados os seguintes parâmetros cinéticos (Quadro 1) no sêmen descongelado seguindo metodologia já estabelecida: motilidade total, motilidade progressiva, motilidade

local, motilidade lenta, motilidade rápida, motilidade circular, motilidade local, espermatozoides imóveis, velocidade curvilínea (VCL), velocidade em linha reta (VSL), velocidade média do trajeto (VAP), distância curvilínea (DCL), distância em linha reta (DSL), distância média do trajeto (DAP), amplitude do deslocamento lateral da cabeça (ALH), frequência de batimento cruzado (BCF), ângulo médio do eixo da cabeça (HAC), linearidade (LIN) e retilinearidade (STR) (Rêgo *et al.*, 2014; Neto *et al.*, 2024).

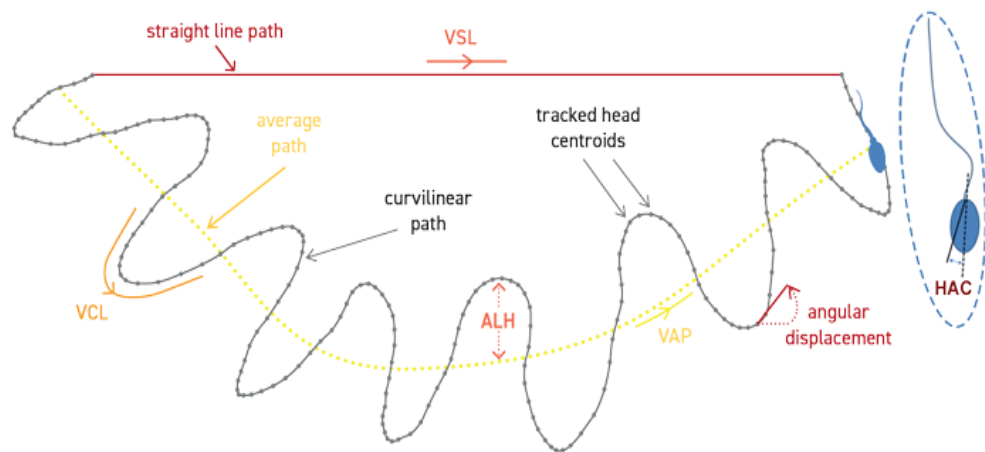


Figura 1. Ilustração dos detalhes cinemáticos avaliados pelo AndroScope®, retirado do *Technical Report* da Minitube.

Quadro 1. Parâmetros de movimento espermático determinados pelo AndroScope®, retirado do *Technical Report* da Minitube.

Parâmetro	Abreviação	Unidade	Definição
Velocity straight line	VSL	$\mu\text{m}/\text{sec}$	Velocidade da cabeça de um espermatozoide ao longo de uma linha reta traçada entre sua posição inicial e a sua posição final.
Velocity curved line	VCL	$\mu\text{m}/\text{sec}$	Velocidade da cabeça de um espermatozoide ao longo de sua trajetória curvilínea real , conforme percebido em duas dimensões no microscópio. Uma medida de vigor da célula.
Velocity average path	VAP	$\mu\text{m}/\text{sec}$	Velocidade da cabeça de um espermatozoide ao longo de sua trajetória média . Essa trajetória é calculada pela suavização da trajetória curvilínea de acordo com os algoritmos do CASA.
Beat cross frequency	BCF	Hz	A taxa média na qual a trajetória curvilínea cruza a trajetória média.
Amplitude of lateral head displacement	ALH	μm	Magnitude do deslocamento lateral da cabeça de um espermatozoide em relação à sua trajetória média.
Wobble	WOB		VAP/VCL ; Medida de oscilação da trajetória real em relação à trajetória média.
Linearity	LIN		VSL/VCL ; Linearidade da trajetória curvilínea.
Straightness	STR		VSL/VAP ; Linearidade da trajetória média.
Head Activity	HAC	rad	Para cada posição por quadro no vídeo de análise, o ângulo médio do eixo (como um radiano) é armazenado (= linha pontilhada). O desvio desse ângulo de dois quadros consecutivos é calculado e a média é calculada sobre todos os quadros. O HAC é a média de todas as diferenças calculadas do ângulo médio do eixo de dois quadros consecutivos. Simplificando: quanto mais a cabeça se move, maior a probabilidade de o espermatozoide ser móvel.

2.6 Análise estatística

Os dados foram inicialmente submetidos à análise descritiva e avaliação da normalidade pelo teste de Shapiro–Wilk. As variáveis foram analisadas utilizando modelos lineares mistos, considerando os tratamentos como efeito fixo e os animais como efeito aleatório. Quando necessário, os dados foram transformados em ranks para atender aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. As médias ajustadas foram obtidas pelo procedimento de médias marginais estimadas (EMMEANS), e as comparações múltiplas entre os tratamentos foram realizadas pelo teste de Tukey. Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média, sendo consideradas diferenças significativas quando $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

A suplementação do diluidor com D-ribose influenciou na motilidade total, motilidade progressiva, motilidade rápida e motilidade lenta pós-descongelamento ($p < 0,05$; Figura 2). A motilidade total e progressiva apresentaram comportamento semelhante entre os tratamentos, com os maiores valores observados no grupo R1 ($41,89 \pm 1,11\%$ e $38,04 \pm 1,09\%$, respectivamente), diferindo do grupo controle ($34,05 \pm 0,93\%$ e $30,69 \pm 0,89\%$, respectivamente). Os tratamentos do grupo R2 também promoveram aumento da motilidade total ($37,94 \pm 1,10\%$) e progressiva ($34,43 \pm 1,08\%$) em relação ao controle, enquanto o grupo R3 apresentou valores intermediários ($36,06 \pm 1,09\%$ e $32,72 \pm 1,04\%$), não diferindo do grupo R2 nem do grupo controle.

A porcentagem de espermatozoides imóveis apresentou comportamento inverso ao observado para as variáveis de motilidade, sendo reduzida no grupo R1 ($58,39 \pm 1,13\%$) em comparação aos demais grupos ($p < 0,05$; Figura 2C). Os grupos R2 e R3 não diferiram do controle para essa variável.

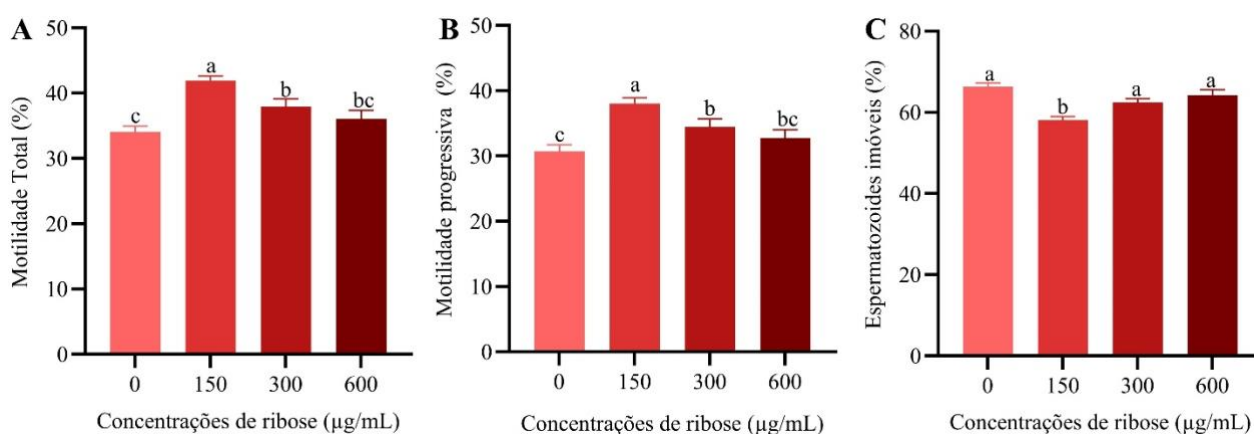


Figura 2. Parâmetros cinéticos de motilidade de espermatozoides ovinos descongelados criopreservados em diluidor controle ou suplementado com D-ribose (150, 300 e 600 µg/mL). (A) Motilidade total; (B) Motilidade progressiva; (C) Espermatozoides imóveis. Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para cada tratamento, os valores representam a média ($\pm$ EPM) obtida a partir dos ejaculados coletados durante o período experimental.

Em relação às subpopulações espermáticas, a motilidade rápida foi superior nos grupos R1 ($8,50 \pm 0,43\%$) e R3 ($7,83 \pm 0,45\%$) em comparação ao controle ($6,02 \pm 0,31\%$), enquanto o grupo R2 apresentou valores intermediários ($p < 0,05$; Figura 3A). Por outro lado, a motilidade lenta foi maior no grupo R1 ($9,64 \pm 0,49\%$) em relação ao controle e ao grupo R3, enquanto o

grupo R1 apresentou valores intermediários ($p < 0,05$; Figura 3B). A motilidade circular também aumentou no tratamento R1 ($19,36 \pm 0,83\%$) em comparação ao controle e ao grupo R2 ($p < 0,05$; Figura 3C). Entretanto, a motilidade local não foi influenciada pela suplementação com D-ribose ($p > 0,05$; Figura 3D).

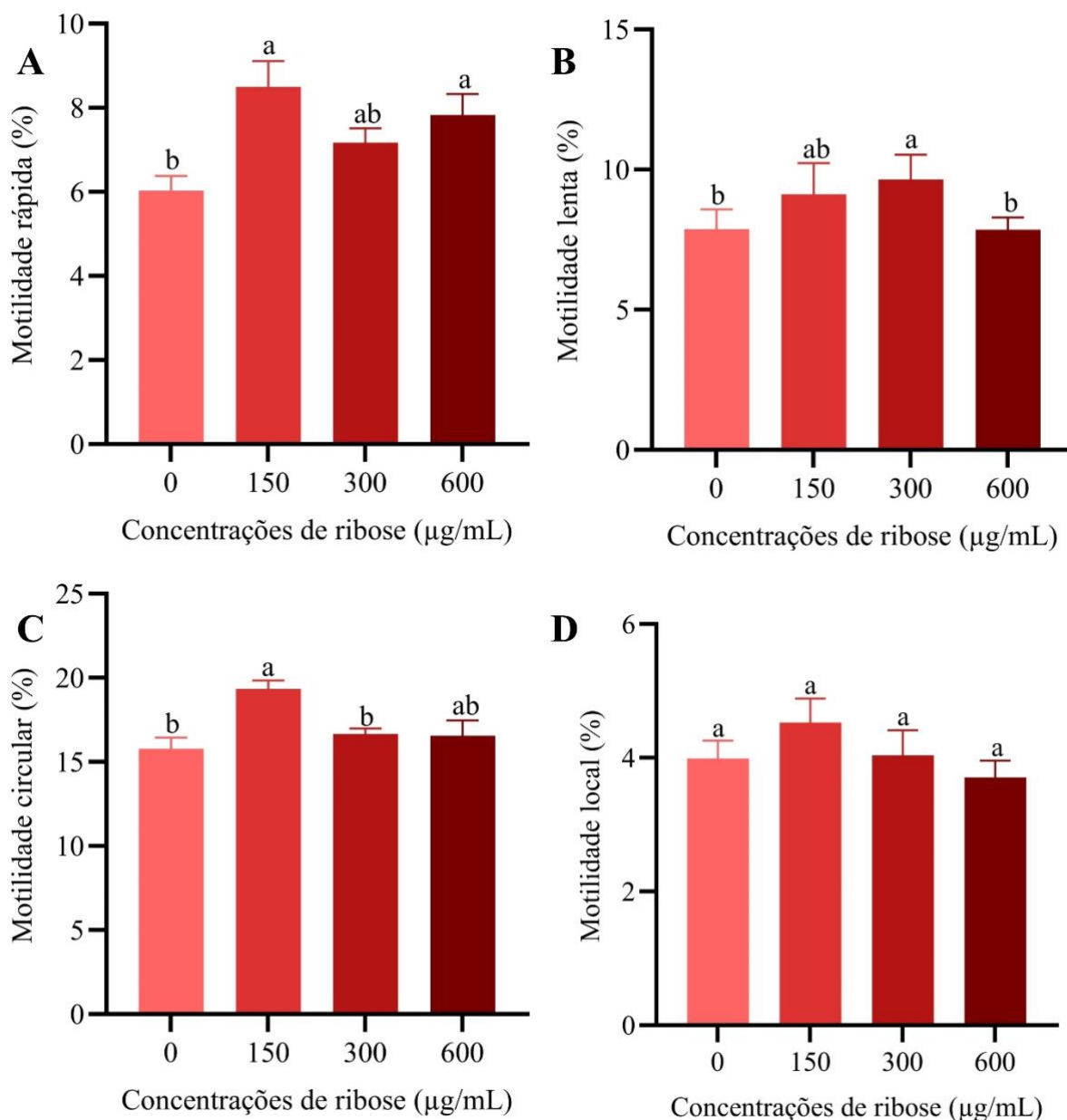


Figura 3. Subpopulações de motilidade de espermatozoides ovinos descongelados criopreservados em diluidor controle ou suplementado com D-ribose (150, 300 e 600 µg/mL). (A) Motilidade rápida; (B) Motilidade lenta; (C) Motilidade circular; (D) Motilidade local. Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para cada tratamento, os valores representam a média ($\pm$ EPM) obtida a partir dos ejaculados coletados durante o período experimental.

Entre os parâmetros cinéticos avaliados, foram observadas diferenças apenas para VSL e VAP (Figura 4). Os maiores valores de VSL e VAP foram observados no tratamento do grupo R3 ($55,11 \pm 1,33 \mu\text{m/s}$ e $64,31 \pm 1,42 \mu\text{m/s}$, respectivamente), diferindo do grupo controle ($49,76 \pm 1,19 \mu\text{m/s}$ e $58,79 \pm 1,33 \mu\text{m/s}$; $p < 0,05$), enquanto os grupos R1 e R3 apresentaram valores intermediários (Figuras 4A e 4B). Por outro lado, a suplementação com D-ribose não influenciou os demais parâmetros cinéticos avaliados, incluindo VCL, DCL, DSL, DAP, ALH, BCF, HAC, LIN e STR ($p > 0,05$; Tabela 2).

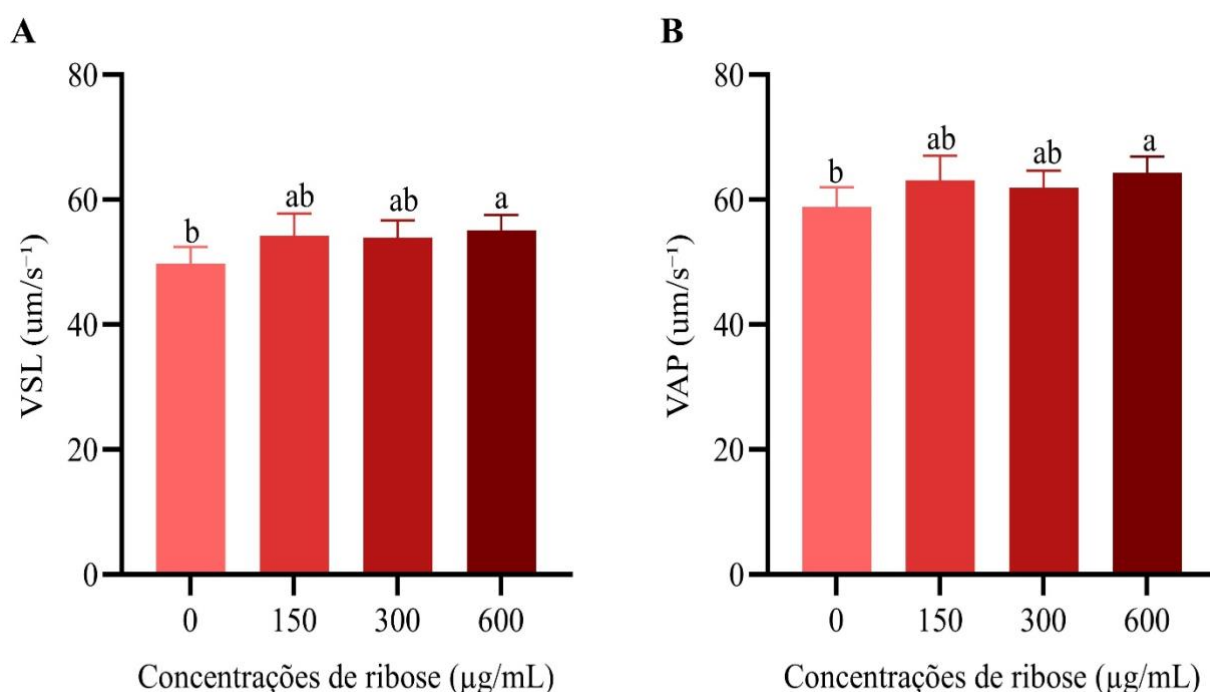


Figura 4. Parâmetros cinéticos de espermatozoides ovinos descongelados criopreservados em diluidor controle ou suplementado com D-ribose (150, 300 e 600 µg/mL). (A) Velocidade retilínea (VSL); (B) Velocidade média da trajetória (VAP). Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$). Para cada tratamento, os valores representam a média ($\pm$ EPM) obtida a partir dos ejaculados coletados durante o período experimental.

Tabela 1. Parâmetros cinéticos de espermatozoides ovinos descongelados criopreservados em diluidor controle ou suplementado com D-ribose (150, 300 e 600 µg/mL). Os valores são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM).

Variável	Tratamento				
	Controle	150 µg/mL	300 µg/mL	600 µg/mL	<i>p</i>
VCL (µm/s)	124,39 ± 3,03	131,33 ± 3,28	126,50 ± 3,15	131,32 ± 3,16	>0,05
DCL (µm)	40,22 ± 0,94	40,73 ± 1,04	40,18 ± 0,94	40,89 ± 0,96	>0,05
DSL (µm)	15,72 ± 0,37	16,51 ± 0,45	16,20 ± 0,44	16,67 ± 0,42	>0,05
DAP (µm)	18,80 ± 0,41	19,51 ± 0,49	19,40 ± 0,44	19,71 ± 0,45	>0,05
ALH (µm)	2,69 ± 0,06	2,73 ± 0,06	2,66 ± 0,06	2,76 ± 0,05	>0,05
BCF (Hz)	13,19 ± 0,25	13,82 ± 0,27	13,66 ± 0,23	13,97 ± 0,27	>0,05
HAC	0,37 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,37 ± 0,01	0,38 ± 0,01	>0,05
LIN	0,44 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,45 ± 0,01	>0,05
STR	0,80 ± 0,00	0,81 ± 0,00	0,81 ± 0,00	0,81 ± 0,00	>0,05

VCL, velocidade curvilínea; VSL, velocidade retilínea; VAP, velocidade média da trajetória; DCL, distância curvilínea; DSL, distância em linha reta; DAP, distância média da trajetória; ALH, amplitude do deslocamento lateral da cabeça; BCF, frequência de cruzamento da trajetória; HAC, coeficiente de hiperativação; LIN, linearidade; STR, retilinearidade.

4 DISCUSSÃO

O presente estudo é pioneiro no uso da D-Ribose associada com parâmetros cinéticos de espermatozoides ovinos da raça Morada Nova, e os resultados demonstraram que a suplementação do diluidor seminal com esse composto, pode ter sido capaz de atenuar parte dos efeitos deletérios promovidos pela criopreservação, nos parâmetros relacionados à motilidade espermática após a criopreservação. Entre os tratamentos avaliados, o grupo R1 apresentou o melhor desempenho, promovendo aumento significativo da motilidade total e progressiva, além de reduzir a porcentagem de espermatozoides imóveis. Dessa forma, esses resultados podem indicar que a D-ribose à 150 µg/mL exerce efeito sobre a funcionalidade dos espermatozoides descongelados, sendo sugestivo que esse monossacarídeo pode atuar como fonte energética e possível agente antioxidante (Alomar *et al.*, 2023; El-Shahat., 2020). Visto isso, a melhoria da motilidade representa um dos principais indicadores da preservação da capacidade fecundante após o descongelamento, uma vez que a movimentação progressiva constitui importante fator para que o espermatozoide percorra o trato reprodutivo feminino e alcance o ócito (Fernández-López *et al.*, 2022; Gliozzi *et al.*, 2017).

Os resultados positivos observados podem ser explicados pelo metabolismo da D-ribose, visto que ela participa diretamente da via das pentoses-fosfato, responsável pela formação de ribose-5-fosfato e do 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP), intermediário associado à síntese de nucleotídeos de purinas e pirimidinas (Braga *et al.*, 2025) e, como consequência, há favorecimento da ressíntese de ATP (Mahoney *et al.*, 2018), o que pode ter permitido uma maior disponibilidade energética para manutenção da motilidade espermática (Pessoa *et al.*, 2023). Além disso, a ativação da via das pentoses-fosfato aumenta a produção de NADPH, cofator utilizado para regeneração da glutatona reduzida, um dos principais sistemas antioxidantes celulares, a qual preserva a integridade das membranas plasmáticas e mitocondrial (Xiao *et al.*, 2018). Dessa maneira, a D-ribose pode contribuir simultaneamente para redução do estresse oxidativo induzido pela criopreservação e, indiretamente, para o metabolismo energético.

Por conseguinte, a redução da porcentagem de espermatozoides imóveis no grupo R1 ajuda a hipotetizar que a D-ribose contribui para preservar a viabilidade funcional das células por meio da manutenção da homeostase redox durante o congelamento (TeSlaa *et al.*, 2023), reduzindo os danos oxidativos. Visto que a manutenção da motilidade depende da integridade das membranas plasmática e mitocondrial, há estudos que demonstram que moléculas capazes

de preservar o metabolismo energético e reduzir a produção de EROs favorecem a manutenção da funcionalidade espermática (Amidi *et al.*, 2016; Pool *et al.*, 2021). Assim, tem-se a hipótese de que esses resultados observados decorreram da combinação entre disponibilidade de ATP e menor comprometimento das estruturas celulares.

Outro aspecto importante observado neste estudo foi que a concentração referente ao grupo R2 de D-ribose apresentou melhora da motilidade total e progressiva comparado ao controle, mas não apresentou resultado superior quando comparado com o grupo R1. Além disso, a concentração referente ao grupo R3 não apresentou melhora nos parâmetros quando comparada ao controle, R1 e R2. Portanto, esse comportamento sugere que existe uma resposta dose-dependente, semelhante ao observado em trabalhos envolvendo suplementos adicionados a diluidores seminais (Hameed *et al.*, 2024; Chankitisakul *et al.*, 2025). Ademais, concentrações moderadas são capazes de exercer ação protetora e metabólica, contudo, doses mais elevadas podem ocasionar alterações na osmolaridade do meio (Ak *et al.*, 2010) ou promover saturação da via das pentoses-fosfato (Gupta *et al.*, 2021), reduzindo os benefícios observados da D-Ribose. Dessa forma, esse padrão também foi descrito recentemente em outros aditivos, como o óxido de grafeno, no qual concentrações intermediárias promoveram maior motilidade e viabilidade, enquanto doses elevadas apresentaram resposta menos eficiente, sugerindo efeito biológico dependente da concentração (Almeida *et al.*, 2026; Öztürk *et al.*, 2026).

Por outro lado, a análise das subpopulações espermáticas mostrou aumento da motilidade rápida nos grupos R1 e R3, sendo indicativo que a D-ribose pode influenciar no padrão e na conservação do deslocamento celular. Além disso, a concentração de 150 e 300 µg/mL promoveram aumento da motilidade lenta, sugerindo que diferentes doses da D-ribose podem modular distintas subpopulações espermáticas. Ademais, ocorreu aumento da motilidade circular no grupo R1, podendo estar associado ao fato de em um ejaculado existir diferentes subpopulações de espermatozoides (Martínez-Pastor *et al.*, 2022) que podem ter sido influenciadas pela ribose, assim como ocorreu na motilidade lenta. Dessa forma, não houveram diferenças associado a motilidade local nos grupos R1, R2 e R3. Os maiores valores de VSL e VAP observados no grupo R3 sugerem que os espermatozoides sobreviventes apresentaram deslocamento eficiente (Garcia-Molina *et al.*, 2023; Azevedo *et al.*, 2024). Entretanto, o grupo R3 não promoveu aumento na motilidade total ou progressiva, ou seja, os resultados demonstraram que doses elevadas da D-ribose podem influenciar uma parcela das células sobreviventes, sem aumentar o número total de espermatozoides viáveis (Vera-Munoz *et al.*,

2009). Dessa forma, melhores parâmetros de velocidade associado à VSL e VAP, isoladamente, não são representativos de melhor qualidade seminal pós-descongelamento.

Por outro lado, a ausência de diferenças significativas para parâmetros como VCL, LIN, STR, ALH e BCF demonstraram que a D-ribose não altera o padrão biomecânico do movimento flagelar, mas atua principalmente preservando a funcionalidade metabólica responsável pela manutenção da motilidade (Garcia-Molina *et al.*, 2023). Resultados semelhantes têm sido descritos em estudos envolvendo antioxidantes (Riesco *et al.*, 2021) e outros suplementos metabólicos adicionados aos diluidores seminais (Abdelnour *et al.*, 2021), nos quais apenas parte dos parâmetros obtidos pelo sistema CASA apresenta resposta significativa, refletindo mecanismos específicos de ação sobre a fisiologia espermática.

5 CONCLUSÃO

Foi demonstrado que a suplementação do diluidor seminal com D-ribose constitui uma forma para redução dos efeitos deletérios da criopreservação do sêmen ovino. Além disso, a concentração de 150 µg/mL apresentou os melhores parâmetros pós-descongelamento, além de reduzir o número de espermatozoides imóveis, enquanto concentrações superiores, como 300 e 600 µg/mL exerceram efeitos específicos sobre alguns parâmetros cinéticos. Dessa forma, reforça o potencial da D-ribose como aditivo para diluidores seminais e fornecem uma base para estudos futuros voltados à avaliação de mecanismos moleculares, integridade espermática e fertilidade *in vivo*.

REFERÊNCIAS

- ABDELNOUR, Sameh A. et al. Effects of propolis-loaded nanoliposomes fortification in extender on buffalo semen cryopreservation. *Scientific reports*, v. 13, n. 1, p. 10621, 2023.
- ADDIS, Paul; SHECTERLE, Linda M.; ST. CYR, John A. Cellular protection during oxidative stress: A potential role for D-ribose and antioxidants. [N.p.], vol. 9, no. 3, pp. 178–182, Sep. 2012. Available at: <https://doi.org/10.3109/19390211.2012.708715>.
- ADELAKUN, Sunday A.; OGUNLADE, Babatunde; FIDELIS, Obinna P.; AJAO, Adewale A. Nutritional supplementation of D-Ribose-L-Cysteine suppresses oxidative stress, spermatogenesis and steroidogenesis recovery in rats exposed to mercury chloride: histomorphometry and biochemical evidence. *Endocrine and Metabolic Science*, [N.p.], vol. 4, 30 Sep. 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.endmts.2021.100105>.
- NETO, Aderson M. Viana et al. Sperm traits and seminal plasma proteome of locally adapted hairy rams subjected to intermittent scrotal insulation. **Animal Reproduction Science**, v. 263, p. 107439, 2024.
- ADELAKUN, Sunday Aderemi; OGUNLADE, Babatunde; ITEIRE, Kingley Afoke; ADEDOTUN, Oluwafemi Abidemi. Ameliorating potential and fertility enhancing activities of nutritional dietary supplementation of D-Ribose –l-Cysteine in cisplatin induced oligoasthenoteratozoospermia and seminiferous epithelium degeneration in adult male Sprague-Dawley rats. *Metabolism Open*, [N.p.], vol. 12, p. 100128, Dec. 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.metop.2021.100128>.
- AK, Kemal et al. Effects of extender osmolarity, cooling rate, dilution rate and glycerol addition time on post-thaw ram semen characteristics and fertilization. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, v. 36, n. 2, p. 33-46, 2010.
- ALLAI, Larbi; BENMOULA, Anass; MARCIANE DA SILVA, Maia; NASSER, Boubker; EL AMIRI, Bouchra. Supplementation of ram semen extender to improve seminal quality and fertility rate. *Elsevier B.V.*, vol. 192, pp. 6–17, 1 May 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.03.019>.
- ALMEIDA, Francisca N.M.; GUERREIRO, Denise D.; ARAÚJO, Alan M.; COSTA, Bruno R.M.; PESSOA, Eduardo R.; PALOMINO, Gaby J.Q.; VIANA NETO, Aderson M.; SILVA, Luciano P.; FREIRE, Valder N.; MOURA, Arlindo A. Graphene oxide enhances post-thaw sperm quality in tropically-adapted rams. *Animal Reproduction Science*, [N.p.], vol. 287, p. 108119, Apr. 2026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2026.108119>. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378432026000229>.
- ALOMAR, Mazen et al. Influences of monosaccharides and disaccharides supplementations in Tris media on the motility patterns of fresh and chilled small ruminant spermatozoa. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, v. 15, n. 3, p. 7-15, 2023.
- AMIDI, Fardin et al. The role of antioxidants in sperm freezing: a review. *Cell and tissue banking*, v. 17, n. 4, p. 745-756, 2016.
- AZEVEDO, H. C. et al. Enhancing evaluation of bull fertility through multivariate analysis of sperm. *Journal of Dairy Science*, v. 107, n. 12, p. 11774-11784, 2024.

BANDAY, Mohamad Naiem; LONE, Farooz Ahmad; RASOOL, Fabiha; RASHID, Muzamil; SHIKARI, Arif. Use of antioxidants reduce lipid peroxidation and improve quality of crossbred ram sperm during its cryopreservation. *Cryobiology*, [N.p.], vol. 74, pp. 25–30, 1 Feb. 2017. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2016.12.008>.

BRAGA, José Victor et al. The role of the pentose phosphate pathway on reproductive functions. *Animal Reproduction*, v. 22, n. 4, p. e20240130, 2025.

BUSTANI, Ghadeer Sabah; BAIEE, Falah Hasan. Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders. *Veterinary World*, [N.p.], vol. 14, no. 5, pp. 1220–1233, 1 May 2021a. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1220-1233>.

BUSTANI, Ghadeer Sabah; BAIEE, Falah Hasan. Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders. *Veterinary World*, [N.p.], vol. 14, no. 5, pp. 1220–1233, 1 May 2021b. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1220-1233>.

CHANKITISAKUL, Vibuntita et al. Dose-Dependent Effects of L-Serine Supplementation on Boar Sperm Quality During Chilled and Cryopreserved Storage. *Animals*, v. 15, n. 18, p. 2670, 2025.

CHIGRINSKIY, E A; CONWAY V D. Protective effect of D-ribose against inhibition of rats testes function at excessive exercise. [N.p.]: [N.p.], 2011. 242–249 pp.

EL-SHAHAT, Khaled et al. Influence of sugars and osmoregulators on motility and viability of cooled and frozen-thawed ram semen. *ANIMAL SCIENCE AND GENETICS*, v. 16, n. 2, p. 51-57, 2020.

PEREIRA, E. S. et al. Exigências Nutricionais de Caprinos e Ovinos—BR-Caprinos & Ovinos. Editora Scienza: São Carlos, Brazil, 2024.

FALANA, Benedict; ADELEKE, Opeyemi; ORENOLU, Mulikat; OSINUBI, Abraham; OYEWOPOL, Adeoye. Effect of D-ribose-l-cysteine on aluminum induced testicular damage in male Sprague-Dawley rats. *Jornal Brasileiro de Reproducao Assistida*, [N.p.], vol. 21, no. 2, pp. 94–100, 2017. Available at: <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20170023>.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, Pol et al. Predicting fertility from sperm motility landscapes. *Communications Biology*, v. 5, n. 1, p. 1027, 2022.

GARCIA-MOLINA, Almudena et al. Optimization of human semen analysis using CASA-Mot technology. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, v. 69, n. 2, p. 166-174, 2023.

GLIOZZI, TM et al. A combinação de parâmetros seminais cinéticos e de citometria de fluxo como ferramenta para prever a fertilidade em sêmen bovino criopreservado. *Animal*, v. 11, n. 11, p. 1975-1982, 2017.

GUPTA, Rani; GUPTA, Namita. Pentose phosphate pathway. In: *Fundamentals of bacterial physiology and metabolism*. Singapore: Springer Singapore, 2021. p. 289-305.

HAMEED, Nasir et al. Effects of different extenders, storage temperatures, and antioxidant supplementation on chilled semen quality: a review. *Tropical Animal Health and Production*, v. 56, n. 2, p. 85, 2024.

JURADO-CAMPOS, Alejandro et al. Minimizando o estresse oxidativo do esperma usando nanotecnologia para programas de melhoramento genético em carneiros. *Journal of animal science and biotechnology*, v. 14, n. 1, p. 106, 2023.

LAPWOOD, K R; MARTIN, I C A. The Use of Monosaccharides, Disaccharides, and Trisaccharides in Synthetic Diluents for the Storage of Ram Spermatozoa At 37° C and 5° C. *Australian Journal of Biological Sciences*, [N.p.], vol. 19, no. 4, pp. 655–672, 1966.

MARTÍNEZ-PASTOR, Felipe. What is the importance of sperm subpopulations?. **Animal Reproduction Science**, v. 246, p. 106844, 2022.

MAHONEY, Diane E.; HIEBERT, John B.; THIMMESCH, Amanda; PIERCE, John T.; VACEK, James L.; CLANCY, Richard L.; SAUER, Andrew J.; PIERCE, Janet D. Understanding D-Ribose and Mitochondrial Function. *Advances in Bioscience and Clinical Medicine*, [N.p.], vol. 6, no. 1, p. 1, 13 Feb. 2018. Available at: <https://doi.org/10.7575/aiac.abcm.v.6n.1p.1>.

MEGA OBUKOHWO, Oyovwi; FAITH, Falajiki Yewande; PEGGY EJIRO, Ohwin; ONYEBUCHI, Mok Mishael; AJAYI, Ayodeji Folorunsho. Medicinal applications of D-ribose L-cysteine in neuro-endocrinopathy, reproductive dysfunction and cardio-metabolic syndrome: A review of evidence in animal investigations. *Elsevier Masson s.r.l.*, vol. 11, 1 Aug. 2024. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2024.100153>.

OGUNLADE, B.; ADELAKUN, S. A.; UKWENYA, V. O.; ELEMOSO, T. T. Potentiating response of d-ribose-l-cysteine on sodium arsenate-induced hormonal imbalance, spermatogenesis impairments and histomorphometric alterations in adult male wistar rat. *Jornal Brasileiro de Reproducao Assistida*, [N.p.], vol. 25, no. 3, pp. 358–367, 2021. Available at: <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20200109>.

ÖZTÜRK, Ali Erdem et al. The Effects of Graphene Oxide Nanoparticles on the Cryopreservation of Angora Buck Sperm. *Molecules*, v. 31, n. 6, p. 955, 2026.

PANG, Fanglin et al. Seminal plasma metabolomics and sperm lipidomics profiles of bull semen with different total progressive motile sperm count. *Journal of animal science*, v. 103, p. skaf012, 2025.

PANYABORIBAN, Saritvich; SUWIMONTEERABUTR, Junpen; PHUTIKANIT, Nawapen; SWANGCHAN-UTHAI, Theerawat; THARASANIT, Theerawat; TECHAKUMPHU, Mongkol. Effect of various combinations of sugar supplementation in the extender on Frozen-Thawed ram semen quality and fertility. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, [N.p.], vol. 45, no. 2, pp. 229–237, 2015. Available at: <https://doi.org/10.56808/2985-1130.2640>.

POOL, K. R.; RICKARD, J. P.; DE GRAAF, S. P. Melatonin improves the motility and DNA integrity of frozen-thawed ram spermatozoa likely via suppression of mitochondrial superoxide production. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 74, p. 106516, 2021.

RÊGO, João Paulo Arcelino do. Proteínas do plasma seminal e das células espermáticas de touros *Bos indicus* das raças brahman e guzerá associadas com os parâmetros seminais. 2014.

RODRIGUES PESSOA, Eduardo; ROGER VASCONCELOS, Fábio; DE OLIVEIRA PAULA-MARINHO, Stelamaris; DE MENEZES DALOSO, Danilo;

RIESCO, Marta F. et al. Multiparametric study of antioxidant effect on ram sperm cryopreservation—from field trials to research bench. *Animals*, v. 11, n. 2, p. 283, 2021.

SAHA, Amit; ASADUZZAMAN, Mohammad; BARI, Farida Yeasmin. Cryopreservation techniques for ram sperm. *Veterinary medicine international*, v. 2022, n. 1, p. 7378379, 2022.

SHEHAB-EL-DEEN, Mohamed; ALI, Mohamed; AL-SHARARI, Mohammed. Effects of Extenders Supplementation with Gum Arabic and Antioxidants on Ram Spermatozoa Quality after Cryopreservation. *Animals*, [N.p.], vol. 13, no. 1, 1 Jan. 2023. Available at: <https://doi.org/10.3390/ani13010111>.

SORIA-MENESES, Pedro Javier et al. Effects of long-term cryopreservation on sperm quality and oxidative stress in Manchega rams (*Ovis aries*). *Reproduction*, v. 170, n. 4, 2025.
VERA-MUNOZ, O. et al. Efeito da diluição do sêmen para baixo número de espermatozoides por dose na motilidade e funcionalidade de espermatozoides bovinos criopreservados usando diluente de lipoproteínas de baixa densidade (LDL): comparação com Triladyl® e Bioxcell®. *Theriogenology*, v. 71, n. 6, p. 895-900, 2009.

TESLAA, Tara et al. The pentose phosphate pathway in health and disease. *Nature metabolism*, v. 5, n. 8, p. 1275-1289, 2023.

XIAO, Wusheng et al. NAD (H) and NADP (H) redox couples and cellular energy metabolism. *Antioxidants & redox signaling*, v. 28, n. 3, p. 251-272, 2018.

ZANG, Shengqin; ZOU, Shuqi; CHEN, Xiangyi; PAN, Bo; NING, Ao; QIN, Jianpeng; WEI, Yaozong; DU, Kunlin; YE, Jiangfeng; LIANG, Qiuxia; FANG, Yi; QIONGLA; CIRENLAMU; SONG, Tianzeng; ZHOU, Guangbin. Abnormalities in mitochondrial energy metabolism induced by cryopreservation negatively affect goat sperm motility. *Frontiers in Veterinary Science*, [N.p.], vol. 11, 2024. Available at: <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1514362>.