



PERFIL DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS SEMINAIS DE CARNEIROS ALIMENTADOS COM SUPLEMENTO DE AÇÃO SINÉRGICA REPRODUTIVA.

Juliane Correa Amadeu(PIBIC/Uem), Maycon Araujo Ruivo, Marcos Henrique Alcantara Colli, Gabriel Marqui Barbeiro, Sheila Rezler Wosiacki, Flavio Augusto Vicente Seixas, Antonio Campanha Martinez (Orientador), e-mail: acmartinez@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias / DMV
Umuarama

Medicina Veterinária / Reprodução Animal

Palavras-chave: proteína seminal, suplemento, eletroforese.

Resumo:

Nos sistemas de criação, espera-se que os animais destinados a reprodução atinjam o máximo da capacidade de produção do rebanho. A suplementação com aminoácidos poderá melhorar a eficiência reprodutiva destes animais. Este trabalho visa avaliar alterações no plasma seminal de ovinos suplementados com vitaminas, minerais e aminoácidos. Foram utilizados dez carneiros com padrão racial, peso, idade e produção seminal semelhante que permaneceram em baia coletiva. Os animais foram divididos em dois grupos, G1: Tratados e G2: não tratados. Foram realizadas semanalmente coletas de sêmen de cada animal, durante 11 semanas. O sêmen foi centrifugado para a separação do plasma seminal, que foi armazenado em nitrogênio líquido. As amostras foram descongeladas e re-centrifugadas para a dosagem do teor de proteínas totais pelo método do Biureto e realização de perfil proteico por eletroforese SDS-PAGE.

Introdução

O fator nutricional contribui para a eficiência reprodutiva, apresentando grande impacto nos sistemas de criação. O nível energético da dieta tem sido um dos componentes mais estudados na influência da nutrição sobre a reprodução (BARTH et al., 2008). Uma deficiência ou um excesso podem levar a alterações de estrutura do aparelho reprodutor, e conseqüentemente do plasma seminal. Estudos demonstram que a suplementação com ácidos graxos nos machos objetiva utilizar os benefícios que eles possuem como alimento funcional (COLLA e MORAES, 2006).



Entre os vários componentes do plasma seminal, as proteínas desempenham um papel importante para a capacidade de fecundação dos espermatozoides, podendo estar intimamente ligadas ao desempenho reprodutivo dos machos. O Canter OF[®] é um suplemento com vitaminas, minerais e aminoácidos cuja administração poderia aumentar a concentração das proteínas do plasma seminal. O objetivo do presente estudo foi avaliar, através da técnica de eletroforese, o perfil das proteínas seminais de reprodutores ovinos suplementados com aplicação oral de suplemento comercial com vitaminas, minerais e aminoácidos.

Materiais e métodos

O experimento foi conduzido no Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Maringá – Campus Avançado de Umuarama. Foram utilizados 10 indivíduos com peso, idade e produção seminal semelhantes. Estes foram divididos em dois grupos de cinco indivíduos, denominados Grupo 1 e Grupo 2. Os animais do Grupo 1, receberam, além da dieta convencional, um suplemento comercial com vitaminas, minerais e aminoácidos, na dosagem de 1 mL pela via oral.

Os animais foram submetidos a coletas semanais de sêmen, que foi centrifugado a 600G durante 15 minutos para separação do plasma seminal. O sobrenadante foi armazenado em N₂ líquido até o momento do uso. Para análise da concentração de proteína as amostras foram descongeladas e novamente centrifugadas a 1200G por 10 min. O teor de proteínas totais foi dosado pelo método de Biureto, por meio do kit diagnóstico para proteínas totais da Gold Analisa. As alíquotas foram analisadas por eletroforese SDS-PAGE a 12% e coradas com azul de comassie.

Resultados e Discussão

Todos os indivíduos analisados apresentaram um claro aumento da concentração de proteínas totais em função do tempo decorrido (Figura 1). O teste-t mostrou que não houve diferença significativa entre os indivíduos tratados em relação ao controle ($p < 0,05$).

A análise dos dados mostrou que também não houve correlação entre a temperatura ambiente máxima ($r=0,11$) e mínima ($r=0,06$) em função da expressão de proteínas totais. Embora alguns artigos citam que exista certa correlação entre variações sazonais com a produção de esperma, o intervalo de tempo utilizado neste ensaio e, até mesmo a faixa de temperatura, podem não ter sido suficientes para evidenciar este fato.

A eletroforese SDS-PAGE-1D em gel a 12% mostrou um claro aumento da concentração de proteínas de baixo peso molecular entre 11 e 15 kDa, (Figura 2). Dentre as proteínas mais prováveis nesta faixa de PM



está a espermedesina. De acordo com a sequência de aminoácido desta proteína depositada no Uniprot (W5PEK8), ela teria um peso molecular de 13,1 kDa e um pl teórico de 6,71.

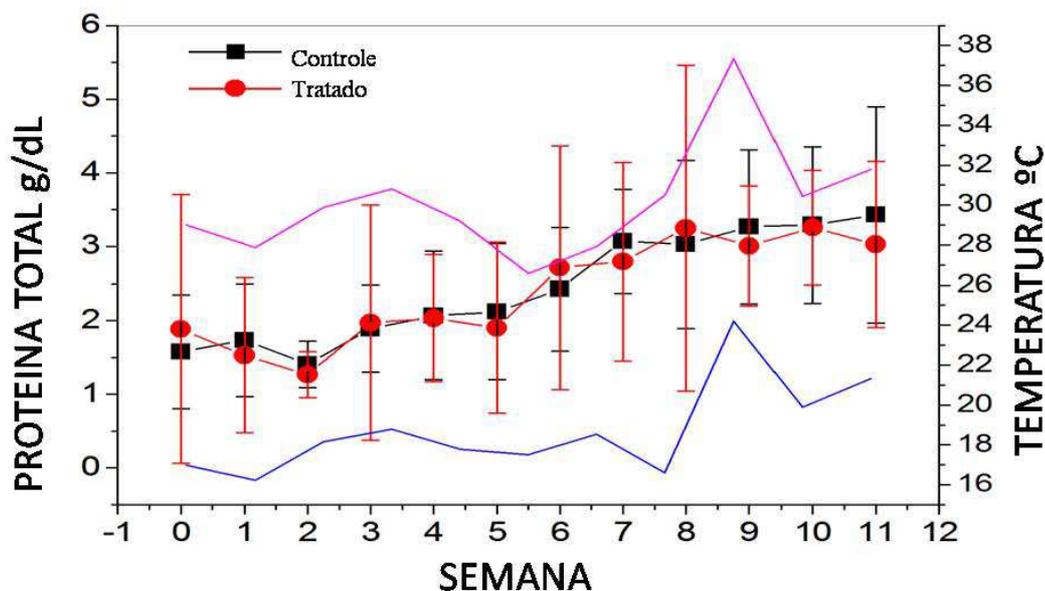


Figura 01. Efeito da concentração de proteínas totais do plasma seminal de carneiros tratados com o suplemento Canter OF (vermelho) e controle (preto) em função da semana de coleta e da variação média da temperatura semanal mínima (azul) e máxima (roxo).

Song et al, (2010) mostraram que existe uma correlação entre a idade e a expressão do gene na espermedesina em diversos tecidos de glândulas anexas ao sistema reprodutivo de suínos, na qual, quanto maior a idade, maior a expressão do gene. Contudo, ele analisou indivíduos desde o primeiro dia de nascimento, ou seja, a partir da idade pré-púbere. No nosso ensaio, os carneiros já estavam na puberdade, o que permite descartar o fator amadurecimento sexual em função da idade, para justificar o aumento da produção das proteínas totais do plasma seminal.

Descartadas as possibilidades já discutidas, nossos resultados sugerem que a estimulação ejaculatória periódica (semanalmente) levou os indivíduos a atingir a homeostase na produção de proteínas do plasma seminal e que, a abstinência ejaculatória no início do experimento, pode ter sido a provável causa da diminuição da produção de proteínas totais de plasma seminal, principalmente as proteínas de baixo peso molecular.

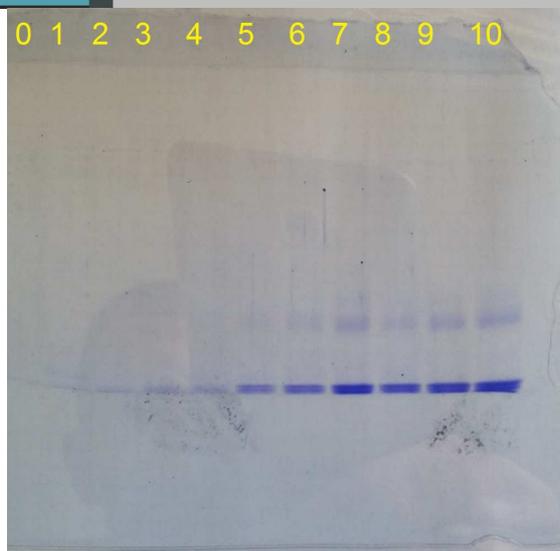


Figura 02. Eletroforese SDS-PAGE 12% de proteínas do plasma seminal de carneiros colhidas a cada semana e corada com azul de comassie.

Conclusões

Houve aumento na concentração de proteínas totais em função do tempo, e não houve diferença significativa entre os tratamentos. O suplemento comercial com vitaminas, aminoácidos e minerais não evidenciou efeito no perfil protéico do plasma seminal nas condições deste experimento.

Agradecimentos

Agradecimentos à Universidade Estadual de Maringá pela bolsa à primeira Autora.

Referências

- BARTH, J.L; ROBERTSON, L.F; KASTELIC, J.P. The effects of the nutrition on sexual development of bulls. **Theriogenology**, v.70, p. 488-494, 2008.
- COLLA .L.M.; MORAES F.P. Alimentos funcionais e nutracêuticos: Definições Legislação e benefícios à saúde . **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, V. 3 n. 2, p. 109-122, 2006.
- SONG, C. Y., GAO, B., WU H., WANG, X. Y., XEN, G. H. MAO, J.Spatial and temporal expression of spermadhesin genes in reproductive tracts of male and female pigs and ejaculated sperm. **Theriogenology**. v.73. p.551-559, 2010.