

## AGENTES ANTIOXIDANTES NA CONGELAÇÃO DE SÊMEN OVINO DE BAIXA QUALIDADE

Viviane Beatriz de Godoi Bacaro (PIBIC/CNPq/FA/UEM) <sup>1</sup>, Jessica Priscila da Paz<sup>1</sup>, Tainá Lorraine Pereira Azevedo<sup>1</sup>, Adalgiza Pinto Neto, Dalila Moter Benvegnú, Antonio Campanha Martinez (Orientador)<sup>1</sup>, e-mail: acmartinez@uem.br

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Medicina Veterinária / Umuarama, PR.

**Área: Medicina Veterinária subárea: 50500007/50504002**

**Palavras-chave:** criopreservação, noz-pecã, quercetina

### Resumo:

O uso de agentes antioxidantes pode auxiliar no processo de criopreservação seminal, objetivou-se com este experimento analisar a influência do extrato da noz pecã e da quercetina na congelabilidade do sêmen ovino de má qualidade. Foram utilizados três carneiros hígidos, adultos como doadores de sêmen. Após a coleta, efetuou-se 3 tratamentos de meio seminal: o tratamento controle, que recebeu apenas o meio base; tratamento Noz, que recebeu o meio base acrescido de extrato de Noz Pecã; e o tratamento Quercetina, que recebeu o meio base acrescido de Quercetina. O sêmen já diluído foi analisado e armazenado em palhetas, as mesmas foram refrigeradas, colocado no vapor de nitrogênio para então serem congeladas. As palhetas foram descongeladas em banho maria a 36°C em seguida foi avaliado os parâmetros de motilidade espermática (0 a 100%) e o vigor espermático (0 a 5). Os dados obtidos foram tabulados e submetidos a cálculos estatísticos.

### Introdução

O advento do sêmen congelado trouxe uma nova potencialidade para a inseminação artificial, concedendo um melhoramento genético dos rebanhos pela capacidade de aumentar a progênie de um macho em inúmeros locais simultaneamente. A deterioração dos espermatozoides durante os processos de refrigeração e congelação, reduz a viabilidade espermática e fertilidade devido a peroxidação que ocorre na membrana lipídica das células, decorrente à alta susceptibilidade à ação das espécies reativas do oxigênio (eROS). O aumento excessivo na produção de eROS gera um efeito prejudicial, acarretando o estresse oxidativo nos espermatozoides (ANDRADE et al., 2010). Tendo em vista conter a elevação exacerbada dos níveis dos agentes oxidantes, para melhorar a qualidade espermática, várias substâncias com função antioxidante são referenciadas na literatura, dentre

elas a quercetina, apontada pela sua capacidade de reduzir os danos oxidativos sofridos pelas células, pois interrompe a peroxidação lipídica ao reagir com íons metálicos, diminuindo a formação das eROS e inativa os principais agentes oxidantes (AFANAS'EV et al., 1989). A noz pecã, uma amêndoa do fruto proveniente da noqueira-pecã (*Carya illinoensis*), também contém propriedades antioxidantes, como tocoferóis e compostos fenólicos, dessa forma pode ser utilizada como antioxidante e crioprotetor espermático (ROBBINS et al., 2015). Entretanto é sabido que certamente haverá danos celulares ocasionados pelo frio, desta forma há um entendimento que a motilidade espermática tenha um valor mínimo de 70% para o material ser submetido ao processo de congelação (CBRA, 1998). Nesse experimento objetivou-se avaliar se a adição de agentes antioxidantes, em ejaculados com valores de motilidades abaixo do recomendado para a congelação convencional, tornariam esse material em padrões aceitáveis.

## **Materiais e métodos**

No setor de Reprodução e Criação Animal, da Universidade Estadual de Maringá – Campus Umuarama Fazenda, foram selecionados 3 carneiros, adultos como doadores de sêmen, submetidos ao mesmo manejo (água e alimentação). Realizou-se no total 3 coletas espermáticas, com intervalo de 3 dias. Para a coleta do ejaculado, os animais foram devidamente contidos, o pênis foi exposto com auxílio de uma gaze estéril. O ejaculado foi encaminhado ao laboratório para análise espermática e examinado de acordo com o padrão do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal avaliando: motilidade, vigor e concentração. Para serem utilizados os ejaculados tinham que ter valores de motilidade entre 50 e 70%. Como diluente seminal, foi empregado meio Tris base modificado (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Realizou-se 3 tratamentos: controle, que recebeu apenas o meio base; tratamento Noz, que recebeu o meio base acrescido de 5% de extrato aquoso da Noz Pecã; e o tratamento Quercetina, que recebeu o meio base acrescido de 10µg/mL de Quercetina. O sêmen já diluído foi analisado, imediatamente após a diluição e armazenado em palhetas, realizando duas repetições para cada tratamento, as mesmas foram refrigeradas em temperatura de 5°C durante 4 horas, colocadas no vapor de nitrogênio, durante 5 minutos para então serem congeladas na temperatura de -196°C. A segunda análise espermática foi realizada a partir de 15 dias pós congelação. Neste ato as palhetas foram colocadas em banho maria na temperatura de 36°C, transcorrido o tempo de 30 segundos, para posterior análise espermática, os espermatozoides foram analisados em microscopia óptica, com auxílio de uma lâmina e a sobreposição de uma lamínula, sendo avaliado a motilidade espermática (0 a 100%) e o vigor espermático (0 a 5) (CBRA, 1998).

## **Resultados e Discussão**

Os antioxidantes possuem ação comprovada na diminuição do estresse oxidativo em grande parte dos líquidos e tecidos orgânicos (ANDRADE et al., 2010). No entanto, ao avaliar as amostras de sêmen ovino sujeitos à congelação em meio base associado ao extrato de noz-pecã e o meio base associado a quercetina, não foram observadas mudanças significativas de crioproteção aos espermatozoides (Tabela 1).

**Tabela 1:** Motilidade e vigor espermático de sêmen ovino pré (fresco) e pós (congelado) congelação

		Controle	Quercetina	Noz Pecã
<b>Motilidade espermática (%)</b>	<b>Fresco</b>	59,25	50,5	52,75
	<b>Congelado</b>	7,75	7,5	7,5
<b>Vigor espermático (0 a 5)</b>	<b>Fresco</b>	2,30	2,00	2,20
	<b>Congelado</b>	0,75	0,75	1,12

Segundo o parâmetro descrito no manual de exame andrológico e avaliação de sêmen animal do CBRA, uma amostra do sêmen ovino congelado é considerada dentro do padrão quando apresentar motilidade progressiva igual ou superior a 40% e vigor igual ou superior a 3 na pós-descongelação (CBRA, 1998). No caso deste experimento, as amostras de todos os tratamentos, após a criopreservação, apresentaram média de motilidade e vigor inferior ao padrão necessário. Este estudo pode indicar que a adição de antioxidantes em sêmen ovino de baixa qualidade, nas concentrações utilizadas neste estudo, não se mostrou eficiente para manter a qualidade de espermatozoides submetidos à criopreservação.

## Conclusões

O extrato de noz-pecã e a quercetina mostraram-se inócuos para a manutenção da viabilidade espermática pós descongelação em sêmen ovino de baixa qualidade.

## Agradecimentos

A Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

## Referências

AFANAS'EV, I.B.; DOROZHKO, A.I.; BRODSKII, A.V.; KOSTYUK, V.A.; POTAPOVITCH, A.I. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. **Biochemical Pharmacology**, v.38, p.1763-1769, 1989.

ANDRADE, E.R.; MELO-STERZA, F.A.; SENEDA, M.M.; ALFIERI, A.A. Consequências da produção das espécies reativas de oxigênio na

reprodução e principais mecanismos antioxidantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.34, p.79-85, 2010.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual de exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2ed, Belo Horizonte, CBRA, 1998.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7. ed., Barueri-SP: Manole, 513p, 2004.

ROBBINS, K. S.; GONG, Y.; WELLS, M. L.; GREENSPAN, P.; PEGG, R. B. Investigation of the antioxidant capacity and phenolic constituents of U.S. pecans. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 1002-1013, 2015.