

USO DE QUERCETINA EM SÊMEN REFRIGERADO DE CARNEIRO

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

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Agrárias/Umuarama, PR.

Área: Medicina Veterinária subárea: Reprodução Animal

Palavras-chave: antioxidante, carneiro, espermatozoide

Resumo:

A utilização de tecnologias reprodutivas é fundamental para aumento da progênie e viabilização dos machos, entre as tecnologias a criopreservação apresenta algumas desvantagens devido o estresse oxidativo causador de injúrias na membrana celular espermática. O sêmen da espécie ovina é extremamente sensível à criopreservação, sofrendo reduções na motilidade e viabilidade espermática. Dessa forma, há grandes pesquisas e utilização no uso de antioxidantes e protetores de membrana espermática, a quercetina, um flavonoide que atua como antioxidante não enzimático capaz de inibir a formação de radicais livres pela interação com íons superóxidos, através da reação com radicais peroxilipídicos e por quelação de íons ferro e quando adicionada ao diluidor do sêmen pode melhorar a motilidade dos espermatozoides, além de reduzir a fragmentação do DNA no sêmen sexado. O objetivo desse estudo foi avaliar a adição de 20µg/mL de quercetina na viabilidade espermática de sêmen de carneiro refrigerado analisados em 0, 12, 24, 36, 42, 54, 60, 72 horas de refrigeração.

Introdução

A inseminação artificial torna possível a utilização de um macho para fertilização de várias fêmeas, possibilita o transporte da genética sem necessidade de movimentar animais, assim como limita a transmissão de algumas doenças e a incidência de traumas durante a monta natural (PRIEN, 2016). Entretanto, alguns obstáculos persistem nas tecnologias de reprodução dos ovinos, como é o caso da criopreservação de espermatozoides. A criopreservação é uma biotécnica que tem como desvantagem induzir o espermatozoide ao estresse oxidativo que provoca danos à membrana celular espermática, assim como danos ao material genético. Devido a obstáculos na utilização do sêmen que passa por congelamento, o sêmen refrigerado tem sido utilizado nas inseminações

artificiais, com resultados semelhantes à monta. A redução da temperatura no resfriamento induz uma diminuição do metabolismo espermático. Entretanto, ocorre estresse térmico que ocasiona danos estruturais às células espermáticas, prejudicando a motilidade e a capacidade de fecundação dos espermatozoides. Os índices de fertilidade em ovelhas inseminadas com sêmen refrigerado são 45-50%, 25-30% e 15-20% para sêmen refrigerado por 24, 48 e 72 horas respectivamente (ANEL et al, 2006). Considerando que a refrigeração do sêmen provoca uma redução significativa da motilidade espermática, a utilização de diluentes se torna indispensável para manutenção das propriedades do sêmen. Dentre os diluentes mais utilizados destacam-se os que apresentam em sua composição a gema de ovo ou leite desnatado. A gema de ovo fornece nutrição proteica aos espermatozoides e, ainda, apresenta capacidade termo protetora, ou seja, protege a membrana plasmática e restaura os fosfolípidios durante a mudança de temperatura, interação dieta entre lipoproteínas e lipídeos de membrana. Os antioxidantes são utilizados para proteger os espermatozoides de possíveis lesões provocadas pelo estresse oxidativo que ocorre durante a criopreservação, estes podem ser divididos em dois tipos: enzimáticos e não enzimáticos. A quercetina trata-se de um flavonoide que atua como antioxidante não enzimático capaz de inibir a formação de radicais livres pela interação com íons superóxidos, adicionada ao diluidor do sêmen pode melhorar a motilidade dos espermatozoides (SILVA, 2018).

Materiais e métodos

Como doador do sêmen foram selecionados três carneiros adultos (com aproximadamente dois anos de idade), hígidos, submetidos ao mesmo manejo alimentar, alojados no setor de Reprodução e Criação Animal, da Universidade Estadual de Maringá – Campus Umuarama - FAZENDA. Os animais foram identificados como M1, M2 e M3, sendo realizadas no total três coletas espermáticas, com intervalo de três dias. Para a coleta do ejaculado, os animais foram devidamente contidos para o procedimento de coleta seminal. O ejaculado foi depositado em um becker e encaminhado imediatamente ao laboratório de Reprodução Animal para análise. Cada ejaculado foi analisado separadamente segundo critérios do CBRA (2013), quando estava dentro da normalidade, foi acrescentado o sêmen ao diluente, classificado como meio base (grupo controle) e o meio base somado de 20µg/mL de quercetina (grupo quercetina), armazenados em tubos cônicos de 3mL. Nos tubos cônicos de 3 mL foram colocados 1 mL de cada meio, sendo utilizados 14 tubos em cada tratamento. Em cada tubo foi adicionado 240×10^6 espermatozoides. Os tubos foram distribuídos em 7 caixas isotérmicas comerciais (BotuFlex®), pré resfriadas por duas horas com gelo reciclável. Cada caixa recebeu dois tubos de cada grupo de diluente, totalizando 4 tubos e conservados em caixas térmicas para análise em 12, 24, 36, 48, 60, 72 horas.

Resultados e Discussão

Contrariando os resultados apresentados na literatura de Silva et al., (2018) que concluiu que a quercetina em altas concentrações acrescidas ao sêmen caprino diluído limita as oscilações deletérias dos espermatozoides, a adição de 20µg/mL de quercetina diminuiu a motilidade espermática do momento zero até 24 horas de refrigeração (Tabela 1). E nos momentos 36, 48, 60 e 72 horas a adição de 20µg/mL de quercetina não mostrou qualquer interferência na motilidade espermática.

Tabela 1. Valores de motilidade e vigor seminal em diferentes momentos nos grupos Controle e Quercetina.

Fontes de Variação	Valores de Motilidade (%)						
	0 h	12 h	24 h	36h	48h	60h	72h
Controle	68,8 ^a	59,9 ^a	56,6 ^a	47,7 ^a	38,8 ^a	32,5 ^a	22,2 ^a
Quercetina	63,8 ^b	51,0 ^b	43,3 ^b	43,3 ^a	29,1 ^a	28,1 ^a	15,8 ^a
Fontes de Variação	Valores de Vigor (0 a 5)						
	0 h	12 h	24 h	36h	48h	60h	72h
Controle	3,2 ^a	3,1 ^a	3,1 ^a	2,3 ^a	2,4 ^a	2,1 ^a	1,5 ^a
Quercetina	3,0 ^a	2,8 ^b	2,5 ^a	2,3 ^a	1,8 ^b	2,1 ^a	1,3 ^b

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$).

O vigor apresentado pelo do grupo controle foi superior nos seguintes momentos 12, 48 e 72horas. Sendo que a adição de quercetina não se mostrou eficaz para apresentar um melhor vigor.

Conclusão

Adição de 20µg/mL de quercetina no meio de refrigeração seminal não melhorou os parâmetros de motilidade e vigor seminal em sêmen refrigerado de 0 a 72 horas.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo financiamento da Bolsa para realização do experimento.

Referências

ANEL, L. et al. Improvement Strategies in Ovine Artificial Insemination. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 41, p. 30–42, 2006.

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3.ed. Belo Horizonte, 2013. p. 104-119.

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

PRIEN, S.; IACOVIDES, S. Cryoprotectants & Cryopreservation of Equine Semen: A Review of Industry Cryoprotectants and the Effects of Cryopreservation on Equine Semen Membranes, **Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research**.v.3, n 1, p. 2-8, 2016.

SILVA, L.F.M.C et al. Quercetin promotes increase in the fertility rate of frozen semen of Stallions considered sensitive to freezing. **Journal Equine Veterinary Science**, v. 66, p. 82, 2018.