

REFRIGERAÇÃO DE SÊMEN OVINO COM DILUENTE ADICIONADO DE EXTRATO DE NOZ PECÃ

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

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

Área e subárea do conhecimento: Medicina Veterinária – Reprodução Animal.

Palavras-chave: antioxidante, carneiro, espermatozoide

Resumo

Este experimento teve o objetivo de analisar o extrato de Noz Pecã, como nova alternativa de agente antioxidante em diluente seminal de ovino. Após a coleta e análises de microscopia óptica, o sêmen foi refrigerado, reanalisado e avaliado nos períodos de 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas. A adição do Noz pecã demonstrou melhor motilidade no momento 12h quando comparado ao grupo controle, no entanto, os dois tratamentos sofreram danos pelo processo de refrigeração, evidenciado com a redução dos parâmetros analisados.

Introdução

Com a maior demanda pelo interesse em biotecnologias reprodutivas aplicadas a produção de ovinos, tem-se buscado o desenvolvimento de melhores diluidores seminais que promovam o armazenamento seminal por longos períodos, facilitando a difusão do material genético de animais de alto valor zootécnico (MENEZES et al., 2018).

A deterioração dos espermatozoides durante o processo de refrigeração pode contribuir para o acúmulo de produtos tóxicos das espécies reativas de oxigênio, formadas através da peroxidação lipídica das membranas dos espermatozoides. Essas espécies reativas, são formas reduzidas de oxigênio e de seus produtos que são utilizados nos processos de modulação espermática para capacitação e fertilização, porém quando presentes sob a forma de radicais livres podem provocar danos estruturais ao DNA e outros componentes celulares (BARÇANTE, 2016).

Estudos demonstram que o uso de produtos com agentes antioxidantes adicionados ao diluidor, melhoram a viabilidade espermática e previnem danos oxidativos (BARROS et al., 2016).

Uma alternativa é o uso de extratos de plantas aos diluidores de sêmen pela presença de substâncias bioativas com propriedades antioxidantes ricas em compostos fenólicos, como é o caso do Noz Pecã, que apresenta baixo índice de ácidos graxos saturados e elevados índices de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados, além de ser rico em compostos fenólicos, apresentam na sua composição esteroides e tocoferóis, onde estes compostos realizam atividade antioxidante, estabilizando radicais livres (CAVALCANTE et al., 2016; PRADO et al., 2009).

Materiais e métodos

Como doadores do sêmen, foram selecionados 3 carneiros adultos (com aproximadamente 2 anos de idade), hígidos, submetidos ao mesmo manejo (água e alimentação). Os animais foram identificados como M1, M2 e M3, sendo realizadas no total 3 coletas espermáticas, em cada reprodutor, com intervalo de 3 dias entre as mesmas.

Para a coleta do ejaculado utilizou-se a técnica de eletroejaculação, onde os animais foram devidamente contidos e o pênis foi exposto com auxílio de uma gaze. O ejaculado foi depositado em um recipiente e encaminhado ao laboratório de Reprodução Animal para análise imediatamente após a coleta. Cada ejaculado foi analisado separadamente seguindo critérios do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013). Como extensor seminal, foi utilizado o meio base modificado, descrito por Hafez & Hafez (2004): Tris hidroximetil aminometano (3,63g); Glicose (0,5g), Ácido cítrico (1,99g); Gema de ovo filtrada (15ml); Água destilada (qsp 100mL).

Houve dois tratamentos de meio seminal: tratamento controle, que recebeu apenas o meio base; tratamento Noz Pecã, que recebeu o meio base acrescido de 5% da solução de extrato de Noz Pecã alcoólico. O sêmen já diluído foi armazenado em tubos de 2mL, realizando duas repetições para cada tratamento em cada momento e posteriormente foram armazenados em temperatura de 5°C, em caixas isotérmicas.

A análise espermática foi realizada nos tempos de 12h, 24h, 36h, 48h, 60h e 72h subsequentes. Para cada momento, os tubos foram colocados em banho maria, na temperatura de 37°C, transcorrido o tempo de 30 segundos, os espermatozoides foram analisados em microscopia óptica, nos aumentos de 100x e 400x, com auxílio de uma lamina e a sobreposição de uma lamínula, sendo avaliado a motilidade espermática (0 a 100%) e o vigor espermático (0 a 5) seguindo critérios do CBRA (2013).

Resultados e Discussão

Os resultados da avaliação espermática evidenciaram diferenças significativas ($p < 0,05$) na motilidade espermática entre os tratamentos nas 12 horas de refrigeração (tabela 1).

No grupo controle houve uma redução gradual significativa entre os momentos 0h e 12h e o momento 24h e 36h, posteriormente manteve-se constante até o momento 60h.

No grupo noz pecã, a motilidade teve uma redução entre os momentos 0h e 12h, 12h a 24h, mantendo-se constante entre o momento 36h a 60h. Contudo o grupo noz pecã apresentou valor numérico de viabilidade seminal até o momento de 48 horas, por apresentar motilidade superior à 40% (CBRA, 2013), enquanto o grupo controle até 36 horas.

Com relação ao vigor espermático, não houve diferença significativa entre os tratamentos em nenhum momento. Havendo um declínio progressivo no grupo controle a partir de 24 horas de refrigeração, mantendo-se constante entre 36 e 60 horas. No grupo noz pecã, houve uma redução também a partir de 24 horas de refrigeração, mas manteve-se constante até o tempo 60 horas.

Tabela 1. Análise espermática ovina em diferentes tempos após refrigeração

Motilidade%			Vigor		
Tempo	Controle	Noz Pecã	Tempo	Controle	Noz Pecã
0h	68,8 ^{aA}	71,25 ^{aA}	0h	3,2 ^{aA}	3,3 ^{aA}
12h	59,1 ^{aB}	66,25 ^{bB}	12h	3,1 ^{aAB}	3,3 ^{aA}
24h	56,1 ^{aB}	58,3 ^{aC}	24h	3,0 ^{aB}	2,8 ^{aB}
36h	47,7 ^{aC}	46,6 ^{aD}	36h	2,5 ^{aC}	2,4 ^{aB}
48h	38,8 ^{aC}	44,6 ^{aD}	48h	2,4 ^{aC}	2,3 ^{aB}
60h	32,5 ^{aC}	35,9 ^{aDE}	60h	2,1 ^{aC}	2,2 ^{aBC}
72h	22,2 ^{aD}	25,3 ^{aE}	72h	1,5 ^{aD}	1,6 ^{aC}

Números seguidos de letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam diferença estatística ($p < 0,05$)
Números seguidos de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferença estatística ($p < 0,05$)

Segundo Milczewsk et al. (2000) o processo de refrigeração causa diminuição na qualidade do sêmen, já sendo esperado o processo de redução da motilidade logo nas primeiras 8h após a refrigeração, o que ocorreu nos dois tratamentos. Outros estudos demonstram que o processo de criopreservação acarreta estresse oxidativo à célula espermática e que a adição de antioxidantes aos meios de refrigeração do sêmen ajuda a proteger o espermatozoide contra o dano induzido pelos radicais livres sobre a sua motilidade, e viabilidade (MAIA e BICUDO, 2009).

Conclusões

Os resultados demonstraram que a adição do extrato de Noz pecã mostrou melhor motilidade no momento 12h quando comparado ao grupo controle, no entanto, os dois tratamentos sofreram danos pelo processo de refrigeração, evidenciado com a redução dos parâmetros analisados.

Agradecimentos

Agradeço a Fundação Araucária pela concessão da bolsa.

Referências

BARÇANTE, F. P. S. et al. Avaliação do chá do extrato de copaíba (*Copaifera luetzelburgii*) adicionado ao diluidor Tris-gema na funcionalidade da membrana plasmática de espermatozoides caprinos criopreservados. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.40, n.4, p.332-334, out./dez. 2016.

BARROS, F. N., et al. Adição do Ácido Fólico na criopreservação de sêmen ovino da raça Santa Inês. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.40, n.4, p.317-319, out./dez. 2016.

CAVALCANTE, J. M. M.; SILVA, A. L. S.; TOMAZZONI, L. A.; CARDOSO, I. F. Adição do látex de mangabeira (*Hancornia speciosa*) ao diluidor citrato-glicose-gema na motilidade do sêmen ovino resfriado por 24h: estudos preliminares. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.40, n.4, p.320-321, out./dez. 2016.

CBRA. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 2ª ed. Belo Horizonte, MG: **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, 45p, 2013.

COSTA, V. G. G. Efeito da adição de taurina sobre espermatozoides ovinos refrigerados a 5°C. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.3, n.41, p.683-687, jul./set. 2017.

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

MAIA M.S.; BICUDO, S. D. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. **Revista brasileira de reprodução animal**, Belo Horizonte, v.33, n.4, p.183-193, Oct./Dez. 2009.

MENEZES, G. F. O.; et al. Dimetilacetamida associada ou não ao glicerol para criopreservação de sêmen ovino. **Ciência Animal Brasileira**. v. 19. 2018.

MILCZEWSKI, V; KOZICKI, L. E; NEVES, J. P. Viabilidade do sêmen ovino refrigerado em diferentes diluentes. **Archives of Veterinary Science**. v.5, p.29-33, 2000.

PRADO, A.C.P; ARAGÃO, A.M, FETT, R; BLOCK, J.M. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 12, n. 4, p. 323-332, 2009.