

## SÊMEN BOVINO DILUÍDO E RESFRIADO COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EXTRATO DE NOZ PECÃ – RESULTADOS PARCIAIS.

CAMILA KETERINE GORZELANSKI TRENKEL<sup>1,2\*</sup>, DANIEL TOBIAS BUENO CAVALHEIRO<sup>3</sup>, MATHEUS RAMOS ROSIN<sup>4</sup>, DALILA MOTER BENVENEGNÚ<sup>5</sup>,  
ADALGIZA PINTO NETO<sup>2</sup>

### 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, as biotecnologias reprodutivas, como a inseminação artificial, estão ocupando grande espaço nos sistemas de criação de bovinos (SILVA et al., 2013), e tais avanços na reprodução animal, associados a utilização de sêmen criopreservado nas técnicas de inseminação artificial, proporcionam a preservação do material genético dos animais (SOUZA et al., 2019), destacando-se a criopreservação seminal pela capacidade de manutenção da eficácia de fertilização do sêmen após processamento, armazenamento e inseminação. Partindo do exposto, sabe-se que as etapas de resfriamento, congelamento e descongelamento do sêmen desencadeiam reações de estresse oxidativo aos espermatozoides, culminado na redução da qualidade espermática, provocadas pela produção excessiva de espécies reativas ao oxigênio (ROS) ou ainda, pela diminuição da concentração e disponibilidade de antioxidantes (SILVA et al., 2013).

Os antioxidantes são substâncias como vitaminas, minerais, aminoácidos, ácidos graxos e outros compostos vegetais, que combatem e neutralizam os efeitos deletérios causados pelos radicais livres no sêmen criopreservado, por serem substâncias que protegem a membrana plasmática dos espermatozoides, garantindo sua viabilidade e atividade metabólica, bloqueando a peroxidação lipídica que desencadeia danos irreversíveis a célula (SILVA et al., 2018).

A *Carya illinoensis*, pertence à família Juglandaceae, conhecida como noqueira, produz como fruto; a noz pecã. Suas nozes e casca possuem alto teor de ácidos graxos monoinsaturados, com grande potencial antioxidante, justificado por sua elevada concentração de compostos fenólicos e taninos condensados (BENVENEGNÚ, 2010). Sendo assim, a avaliação da adição de antioxidantes no sêmen porta-se como ferramenta de extrema relevância, uma vez que, os mesmos atuam fortemente no bloqueio das ROS, otimizando a qualidade do sêmen criopreservado, contribuindo com o

1 Acadêmica do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná, contato: catrenkel@gmail.com

2 Grupo de Pesquisa: Saúde, Produção e Reprodução Animal – GPqPRA - LABRA – Laboratório de Reprodução Animal. **Orientadora** Prof. Adalgiza Pinto Neto.

<sup>3,4</sup> Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná.

<sup>5</sup> Doutora em Farmacologia, Professora Adjunta da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná

proposto por Silva et al. (2018), que verificaram melhora nos parâmetros espermáticos após a adição de substâncias antioxidantes ao sêmen.

## 2 OBJETIVOS

Avaliar os efeitos de diferentes concentrações do extrato da casca de noz pecã na cinética do sêmen bovino refrigerado sob diferentes períodos de resfriamento.

## 3 METODOLOGIA

Esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – UFFS, protocolo CEUA nº 6089171220, e está sendo realizado no Laboratório de Reprodução Animal - LABRA, da SUHVU, *Campus* Realeza, UFFS. Para tanto, três bovinos, em idade reprodutiva, das raças Angus, Bradford e Brahman, foram submetidos a uma coleta e avaliação do sêmen, mediante utilização de eletroejaculador, segundo as normas e protocolos do CBRA (2013).

Certificada a viabilidade seminal (CBRA, 2013), o sêmen diluído, em diluidor comercial (OptiXcell<sup>R</sup>, IMV Technologies) foi acrescido de extrato da casca de noz pecã (ECNP) e/ou resfriado de acordo com o grupo experimental, como se segue:

- Grupo 1: Controle, sêmen diluído e resfriado;
- Grupo 2: Sêmen diluído, com adição de 2% ECNP, e resfriado;
- Grupo 3: Sêmen diluído, com adição de 5% ECNP, e resfriado;
- Grupo 4: Sêmen diluído, com adição de 7,5% ECNP, e resfriado;
- Grupo 5: Sêmen diluído, com adição de 10% ECNP, e resfriado.

O extrato da casca de noz pecã utilizado foi concedido por uma professora parceira do estudo. O sêmen foi acondicionado em tubos eppendorfs de 1,0 mL, identificados por animal e grupo, colocados em bandejas plásticas e acondicionados em refrigerador exclusivo para esse fim, calibrado a 4,0°C, com termômetro externo acoplado. O período de resfriamento foi de zero, 12 e 24 horas. Após cada período de resfriamento, o refrigerador foi aberto uma única vez, e uma amostra de sêmen, de cada animal e grupo foi retirada, e submetida a análise da cinética do movimento espermático pelo CASA (IVOS-II<sup>R</sup>, Hamilton Thorne) e da morfologia espermática (CBRA, 2013).

Os dados parciais coletados foram organizados e apresentados de forma descritiva.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mediante utilização de diferentes concentrações (2%, 5%, 7,5% e 10%) do extrato da casca de noz pecã no sêmen bovino, observou-se a tendência da formação de precipitações em forma de

aglomerados densos nas amostras (Figura 1), haja vista que, a presença dos mesmos era maior conforme aumentava-se a concentração do ECNP no sêmen diluído, não sendo notórias alterações na proporção dos aglomerados de acordo com os períodos de resfriamento (zero, 12 e 24 horas).



**Figura 1:** Amostra de sêmen bovino diluído e acrescido com extrato da casca de noz pecã. **Círculo:** precipitações na forma de aglomerados. **Seta:** cabeça de um espermatozoide.

**Fonte:** Autor

Todavia, não foi possível evidenciar alterações morfológicas e/ou na cinética do movimento espermático que indiquem efeitos tóxicos do extrato aquoso da casca de noz pecã sob a viabilidade dos espermatozoides. Dessa forma, é possível levantar proposições sobre a origem da formação dos precipitados nas amostras de sêmen.

Nogara (2018) relatou que a prevalência de doenças de caráter fúngico é alta em culturas de nozes (*Carya illinoensis*), causando danos às folhas, cascas e também na cápsula que envolve a noz. Partido do exposto, pode-se relacionar a formação dos grumos nas amostras de sêmen com a possível presença de filamentos celulares fúngicos em forma de hifas, sendo necessária a realização de técnicas de diagnóstico, que incluem exames microscópicos mediante coloração das amostras, bem como realização de procedimentos de cultura, a fim de identificar a presença dos microrganismos no extrato da casca de noz pecã (SCHREIBER et al., 2010). De forma semelhante, estudos apontam a ocorrência de alterações dos parâmetros morfométricos dos espermatozoides, mediante influência do tipo de diluente empregado nas técnicas de processamento e criopreservação espermática (ARAGÃO et al., 2013), tendo em vista que, o sucesso de tais biotecnologias reprodutivas relaciona-se com a manutenção da capacidade fertilizante dos espermatozoides após

resfriamento, congelação e descongelação, garantindo a integridade e a funcionalidade de suas estruturas celulares (SILVA et al., 2011).

Dessa forma, é notório que vários diluentes estão sendo utilizados e testados, em que se preconiza, especialmente, viabilizar a durabilidade e a qualidade dos espermatozoides. Nesse contexto, Silva et al. (2011) discorreram que para o meio diluidor ser considerado completo e eficaz, o mesmo necessita apresentar algumas substâncias, como compostos iônicos e não iônicos, lipoproteínas, glicerol, agentes intracelulares, glicose ou frutose e outros aditivos.

O diluente comercial utilizado apresenta-se como um meio diluidor pronto para o uso, livre de proteínas de origem animal, contendo em sua composição lipossomas, carboidratos, sais minerais, antioxidantes, fosfolípidos, glicerol, antibióticos (gentamicina, tilosina e entre outros), sendo esterilizado por meio de filtração, com filtros de 0,22  $\mu\text{m}$ . Dessa forma, trata-se de um diluente completo e enriquecido. Assim sugere-se a ocorrência de interações do extrato aquoso da casca de noz pecã com os constituintes do diluente seminal, o que poderia acarretar na formação das precipitações evidenciadas nas amostras, fazendo-se necessária a investigação das possíveis interações entre os compostos, substituindo-se o diluente empregado no estudo por um meio menos enriquecido, a fim de minimizar as reações de aglutinação dos componentes.

Ademais, o método de análise espermática computadorizada - CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), baseia-se em uma programação capaz de avaliar a cinética do movimento dos espermatozoides mediante diversos parâmetros, por meio da movimentação da cabeça dos espermatozoides, o que é justificado pela maior facilidade em acompanhar o movimento da cabeça do gameta quando comparado com os batimentos do flagelo dos mesmos (MATOS et al., 2008). Assim, devido a prevalência das estruturas em forma de aglomerados nas amostras de sêmen do estudo, a mensuração dos parâmetros referentes à cinética dos espermatozoides após adição do extrato da casca de noz pecã ao sêmen diluído e resfriado, apresentou impossibilidade de leitura, tendo em vista, que tais precipitações foram identificadas pelo sistema automático CASA como cabeças de espermatozoides, conferindo assim dados não fidedignos em relação aos parâmetros de motilidade e viabilidade espermática.

Dessa forma, o estudo será continuado e readequado, com o intuito de determinar a causa da formação de tais precipitações e assim viabilizar a avaliação do efeito do extrato da casca de noz pecã, em suas diferentes concentrações como agente antioxidante do sêmen bovino refrigerado, o que irá viabilizar a continuidade do estudo, e assim avaliação da ação do ECNP como antioxidante em diferentes concentrações no sêmen bovino refrigerado.

## 5 CONCLUSÃO

O uso do extrato de noz pecã como diluente do sêmen bovino altera a cinética dos espermatozoides e promove aglomeração espermática.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAGÃO, C. P. M. et al. Efeitos da criopreservação sobre a morfologia e morfometria de espermatozoides de caprinos diluídos em meio à base da água de coco em pó (acp-101c). **Ciência Animal**, v. 23, n.2, p.16-28, 2013.

BENVEGNÚ, M. D. Ação protetora da *Carya illinoensis* sobre a toxicidade induzida por ciclofosfamida em ratos. **Dissertação** (Programa de Pós-Graduação em Farmacologia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, p. 107, 2010.

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

MATOS, D.L. et al. Análise computarizada de espermatozoides: revisão de literatura. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.32, n.4, p.225-232, 2008.

NOGARA, W. J. P. Cultura da noz-pecã (*Carya illinoensis*): aspectos de produção, comercialização e perspectivas futuras na região sul do Brasil. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Pós-Graduação em MBA em Gestão do Agronegócio, Departamento de Economia Rural e Extensão, Setor de Ciências Agrárias), Universidade Federal do Paraná, 2018.

SCHREIBER, A. Z. et al. **Deteção e Identificação dos Fungos de Importância Médica**. In: Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária, Anvisa. 2010.

SILVA, N. C. et al. Avaliação de dois diluentes e diferentes técnicas de criopreservação de sêmen bovino. **PUBVET**, v. 5, n. 19, p. 1-34, 2011.

SILVA, C. N. et al. Ação de antioxidantes na manutenção da viabilidade espermática de sêmen bovino criopreservado. **Centro Científico Conhecer**, v. 9, n. 17, p. 1-17, 2013.

SILVA, A. F. et al. Efeito da adição de antioxidantes sobre a viabilidade do sêmen bovino. **Arquivo Ciência Veterinária Zoologia UNIPAR**, v. 21, n. 4, p. 145-146, 2018.

SOUZA, S. E. et al. Adição de vitaminas ao meio de criopreservação de sêmen de bovinos pantaneiros. **Investigação**, v. 18, n. 1, p. 1-5, 2019.

**Palavras-chave:** Cinética espermática; viabilidade seminal; antioxidante; resfriamento.

**Nº de Registro no sistema Prisma:** PES – 2020-0356.

**Financiamento:** UFFS