

VIABILIDADE DO SÊMEN BOVINO CONGELADO ACRESCIDO DE UM EXTRATO NATURAL (EM) ANTIOXIDANTE

Isadora Corazza Castagnaro^{1,2}; Claiton Emersson Cogo^{1,2}; Eduardo Crestani
Gonçalves^{1,2}; Nicole Strozack Marcom^{1,2}; Camila Keterine Gorzelanski Trenkel³;
Adalgiza Pinto Neto^{2,4}

1 Introdução

A comercialização de sêmen bovino criopreservado vem crescendo nos últimos anos, uma vez que, as técnicas de congelamento espermática permitem o rápido avanço genético dos rebanhos comerciais. Entretanto, o processo de congelamento pode desencadear danos às células espermáticas, resultando em um número considerável de espermatozoides que não resistem aos processos da criopreservação (Ribeiro *et al.*, 2022).

Estes processos induzem à geração de espécies reativas ao oxigênio (EROs), substâncias que contribuem para a ocorrência de danos celulares, provocando alterações de motilidade, danos ao DNA e as membranas espermáticas (Borges *et al.*, 2020). Os danos oxidativos causados pela produção excessiva de EROs induzem mecanismos de peroxidação lipídica, o que resulta em modificações da função espermática, com redução da motilidade e fertilidade dos espermatozoides (Duarte *et al.*, 2015).

Os antioxidantes são substâncias que possuem papel no combate e neutralização dos efeitos nocivos causados pelas EROs no sêmen criopreservado (Savi *et al.*, 2019). A *Carya illinoensis*, conhecida como noqueira que produz fruto a noz pecã, apresenta elevado teor de ácidos graxos monoinsaturados em suas nozes e casca, apresentando grande potencial antioxidante (Amaral *et al.*, 2019). A avaliação da adição de antioxidantes no sêmen porta-se como uma ferramenta de extrema relevância, uma vez que, atuam no bloqueio das espécies reativas ao oxigênio, otimizando a qualidade do sêmen criopreservado e conseqüentemente as taxas de gestação de rebanhos bovinos.

2 Objetivos

1 Acadêmica de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, contato: isadora.castagnaro@uffs.edu.com.br

2 Grupo de Pesquisa: Laboratório de Reprodução Animal da Universidade Federal da Fronteira Sul - LABRA

3 Mestranda do Programa de Pós Graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza.

4 Docente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul, **Orientadora.**

2.1 Geral

Avaliar o potencial antioxidante de diferentes concentrações de um composto natural (NP), acrescido ao diluidor seminal, sob a viabilidade do sêmen bovino após congelação e descongelação.

2.2 Específicos

- Avaliar o potencial antioxidante de diferentes concentrações de um composto natural (NP), acrescido ao diluidor de sêmen bovino congelado, sob a cinética espermática;
- Avaliar o potencial antioxidante de diferentes concentrações de um composto natural (NP), acrescido ao diluidor de sêmen bovino congelado, sob a morfologia espermática;
- Avaliar os efeitos das diferentes concentrações do composto natural (NP) sobre a porcentagem de espermatozoides bovino, vivos e mortos, após processamento e congelação;
- Avaliar os efeitos da congelação sobre o movimento dos espermatozoides bovino sob diferentes concentrações do composto natural antioxidante (NP);

3 Metodologia

Um bovino reprodutor da raça Braford foi submetido a coletas de sêmen em tronco de contenção, após avaliação andrológica (CBRA, 2013). Foram realizadas nove coletas de sêmen, com intervalo de quinze dias, mediante eletroejaculador (BOIJEKTOR® 2001). O sêmen fresco foi avaliado através do sistema computadorizado de análise espermática – CASA (IVOS-IIR®, Hamilton Thorne), para avaliação da viabilidade espermática.

Certificada sua viabilidade, o sêmen foi diluído em diluidor comercial TRIS-gema de ovo e acrescido de um extrato natural com potencial antioxidante (NP), de acordo com o grupo experimental, como se segue: grupo 1: controle, sêmen diluído; grupo 2: sêmen diluído, acrescido de 0,5% de NP; grupo 3: sêmen diluído, acrescido de 0,75% de NP; grupo 4: sêmen diluído, acrescido de 1% de NP. As diferentes concentrações de NP acrescidas aos grupos experimentais foram elaboradas com objetivo de testar a eficácia do extrato da Noz Pecã em concentração variada, conforme observado em testes prévios.

O sêmen diluído foi envasado em palhetas de 0,25 mL. Para a avaliação, duas palhetas de cada grupo experimental foram descongeladas, homogeneizadas e avaliadas quanto à

viabilidade espermática pelo sistema CASA (IVOS-IIR®, Hamilton Thorne). Foram avaliados parâmetros de motilidade e cinética dos espermatozoides. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância ANOVA, e as diferenças comparadas pelo Teste Tukey, considerando 5% como nível de significância ($p < 0,05$), pelo pacote estatístico SAS.

4 Resultados e Discussão

Na tabela 01 observou-se maior percentual de espermatozoides móveis e progressivos no grupo controle fresco, quando comparado ao grupo controle descongelado e aos grupos acrescidos do NP. Entretanto, não foram evidenciadas diferenças estatísticas significativas entres os parâmetros analisados nos diferentes grupos.

Tabela 01: Motilidade do sêmen bovino fresco e após descongelação, utilizando-se um extrato natural (NP) em diferentes concentrações no meio diluidor.

Grupos experimentais	ESPERMATOZOIDES			
	Móveis (%)	Progressivos (%)	Estáticos (%)	Lentos (%)
Controle fresco	87.57 ^a	43.77 ^a	12.42 ^b	0.48 ^c
Controle descongelado	34.26 ^b	17.98 ^b	65.73 ^a	0.93 ^b
NP 0.5% descongelado	33.80 ^b	21.05 ^b	66.20 ^a	0.85 ^b
NP 0.75% descongelado	33.02 ^b	20.11 ^b	66.97 ^a	0.77 ^b
NP 1% descongelado	28.60 ^b	16.94 ^b	71.40 ^a	0.70 ^b

^{a-c}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$)

Na Tabela 02 é possível observar diferença entre os valores de Velocidade Média da Trajetória (VAP), Velocidade Curvilínea (VCL), Velocidade em Linha Reta (VSL) e VAP progressivas entre o grupo controle fresco quando comparado ao grupo controle descongelado e demais tratamentos. Entretanto, não se evidenciaram diferenças entres os parâmetros de

Tabela 02: Cinética da velocidade espermática no sêmen bovino a fresco e após descongelação, utilizando-se um extrato natural (NP) em diferentes concentrações no meio diluidor.

Grupos experimentais	Parâmetros de velocidade espermática avaliados					
	VAP	VCL	VSL	VAP Progressivas	VAP Lentas	VSL Lentas
Controle fresco	136.42 ^a	266.1 ^a	101.38 ^b	132.94 ^a	20.26 ^a	11.97 ^a
Controle descongelado	78.83 ^b	137.29 ^b	65.37 ^b	97.58 ^b	23.30 ^a	9.38 ^a
NP 0.5% descongelado	87.17 ^b	155.11 ^b	74.89 ^b	101.91 ^b	24.75 ^a	11.67 ^a
NP 0.75% descongelado	86.48 ^b	161.77 ^b	73.08 ^b	100.73 ^b	17.01 ^a	12.48 ^a
NP 1% descongelado	90.15 ^b	164.78 ^b	72.16 ^b	101.57 ^b	20.11 ^a	10.44 ^a

^{a-c}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem ($p < 0,05$)

VAP lentas e VSL lentas entre os cinco grupos analisados.

Na tabela 03 foi possível identificar diferenças entre o grupo controle fresco e os demais grupos experimentais, nas variáveis retilinearidade (STR), Amplitude de Deslocamento Lateral da Cabeça (ALH), Deslocamento em Linha Reta (DSL), Deslocamento Curvilíneo (DCL) e Deslocamento Médio da Trajetória (DAP). Ademais, evidencia-se valores

superiores de Oscilação (WOB) e linearidade (LIN) nos grupos controle fresco, controle descongelado e NP 0.5% descongelado, em comparação aos demais grupos avaliados neste estudo. Ademais, quanto maior os valores de STR e menor os valores de LIN, superior é a capacidade fertilizante dos espermatozoides.

Tabela 03: Cinética da trajetória espermática no sêmen bovino a fresco e após descongelação, utilizando-se um extrato natural (NP) em diferentes concentrações no meio diluidor.

Grupos experimentais	Parâmetros de trajetória espermática avaliados								
	STR	WOB	LIN	BCF	ALH	DSL	DCL	DAP	STR Progressivas
Controle fresco	81.04 ^a	51.30 ^a	40.54 ^a	30.52 ^a	11.66 ^a	30.99 ^a	87.83 ^a	46.41 ^a	90.97 ^a
Controle descongelado	88.72 ^a	57.24 ^a	48.84 ^a	33.06 ^a	7.33 ^a	18.65 ^a	40.20 ^a	22.81 ^a	93.88 ^a
NP 0.5% descongelado	90.27 ^a	56.14 ^{ab}	49.04 ^a	33.61 ^a	6.98 ^a	20.04 ^a	43.58 ^a	24.09 ^a	93.30 ^a
NP 0.75% descongelado	89.45 ^a	54.96 ^{ab}	47.53 ^{ab}	31.97 ^a	7.40 ^a	18.21 ^a	41.80 ^a	22.69 ^a	93.07 ^a
NP 1% descongelado	88.72 ^a	53.93 ^{ab}	46.93 ^{ab}	31.01 ^a	7.62 ^a	18.16 ^a	42.01 ^a	22.59 ^a	92.58 ^a

^{ab}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem (p<0,05)

Na Tabela 04, o grupo controle fresco apresentou valor inferior de espermatozoides com cauda dobrada, em relação aos grupos controle descongelado e NP 1% descongelado. O percentual de espermatozoides com gota distal, também foi superior nos grupos controle descongelado e NP 1% descongelado em relação ao grupo controle fresco (Tabela 04). Ainda, ao avaliar defeitos de peça intermediária, evidenciou-se maior número de alterações no grupo NP 1% descongelado, em relação aos demais grupos estudados, sendo este valor inferior no

Tabela 04: Defeitos da morfologia espermática no sêmen bovino a fresco e após descongelação, utilizando-se um extrato natural (NP) em diferentes concentrações no meio diluidor.

Grupos experimentais	MORFOLOGIA ESPERMÁTICA				
	Cauda enrolada (%)	Cauda dobrada (%)	Gota proximal (%)	Gota distal (%)	DRM (%)
Controle fresco	0.13 ^a	2.08 ^a	2.23 ^a	4.62 ^a	0.42 ^a
Controle descongelado	0.68 ^a	12.18 ^a	5.93 ^a	12.30 ^{ab}	1.04 ^{ab}
NP 0.5% descongelado	0.62 ^a	8.16 ^{ab}	2.27 ^a	7.67 ^{ab}	0.72 ^a
NP 0.75% descongelado	0.40 ^a	7.75 ^{ab}	1.91 ^a	8.60 ^{ab}	0.76 ^a
NP 1% descongelado	0.58 ^a	11.48 ^a	3.80 ^a	14.71 ^a	2.03 ^a

^{ab}Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem (p<0,05)

grupo controle fresco.

Estudos prévios sobre a adição de extratos antioxidantes na diluição de sêmen criopreservado demonstram resultados análogos aos demonstrados nesta pesquisa. Como observado por Savi *et al*, o agente antioxidante é capaz de reduzir a produção de radicais livres, porém não produziu efeito na motilidade total do grupo quando comparado ao grupo sem aditivo. Além disso, não foram observadas alterações significativas na preservação da membrana acrossomal e integridade da membrana em grupos acrescidos de antioxidantes pós

descongelação. Ademais, não há estudos conclusivos sobre antioxidantes isolados, em associação ou qual sua concentração ideal para que a redução dos EROs resulte em efeitos positivos nos parâmetros de cinética e motilidade do sêmen bovino.

5 Conclusão

Neste estudo, a adição de um extrato natural com potencial antioxidante em diferentes concentrações no diluidor do sêmen bovino não demonstrou diferença entre os grupos tratados, sob a melhoria da cinética espermática. No entanto, ressalta-se a necessidade de mais estudos em torno da concentração ideal de NP a ser adicionado ao diluidor de sêmen bovino.

Referências Bibliográficas

- AMARAL, A. A. D. et al. Antioxidant Evaluation of Extracts of Pecan NutShell (*Carya illinoensis*) in Soybean Biodiesel B100. **Global Challenges**, v. 3, n. 11, p. 1900001, 2019.
- BORGES, M. et al. Sperm proteomics-Fertility biomarkers View project. **Rev Bras Reprod Anim**, v.44, n.1, p.32-38, jan./mar. 2020.
- CBRA. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 2ª ed. **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, MG. 45p, 2013.
- DUARTE, M. F. et al. Avaliação do tocoferol no congelamento do sêmen bovino e nas taxas de prenhez após inseminação artificial em tempo fixo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 114–118, 2015.
- RIBEIRO, V. H. A. et al. Avaliação da qualidade do sêmen bovino criopreservado com diluidores de origem animal e vegetal. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 10, p. 66182–66190, 6 out. 2022.
- SAVI, P. A. P. et al. uso de antioxidantes em meios diluidores para sêmen ovino: revisão de literatura use of antioxidants in semen extenders for sheep: literature review. **ARS VETERINARIA**, v. 31, n. 1, p. 12–018, 2015.

Palavras-chave: Viabilidade espermática; Antioxidante; Aditivo; Espermatozoide.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2023-0295

Financiamento: Fundação Araucária