

SÊMEN BOVINO DILUÍDO E RESFRIADO COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EXTRATO DE NOZ PECÃ

**MARIA CAROLINE NORTE^{1,2*}, CAMILA KETERINE GORZELANSKI TRENKEL³,
DANIEL TOBIAS BUENO CAVALHEIRO⁴, DALILA MOTER BENVENEGNÚ⁵,
ADALGIZA PINTO NETO²**

1 Introdução

As biotecnologias reprodutivas, como a inseminação artificial, estão ocupando grande espaço nos sistemas de criação de bovinos (SILVA et al., 2013), que associadas a utilização de sêmen criopreservado proporcionam a preservação do material genético dos animais (SOUZA et al., 2019), destacando-se a criopreservação do sêmen, pela capacidade de manutenção da eficácia de fertilização após seu 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

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

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

³ Médica Veterinária e Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul – Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná.

⁴ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná.

⁵ Doutora em Farmacologia, Professora Adjunta da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná.

concentração de compostos fenólicos e taninos condensados (BENVEGNÚ, 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 proposto por Silva et al. (2018), que verificaram melhora nos parâmetros espermáticos após a adição de substâncias antioxidantes ao sêmen.

2 Objetivos

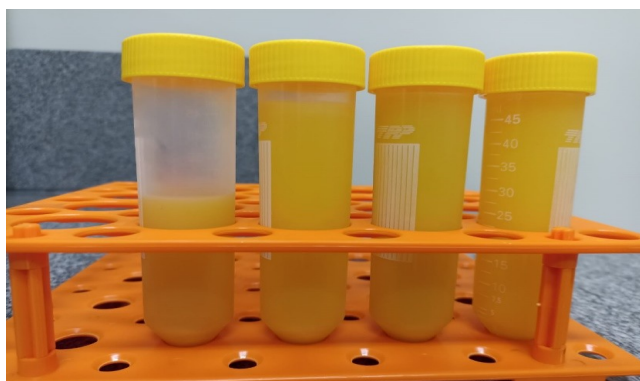
Avaliar os efeitos de diferentes concentrações do extrato da casca de noz pecã na cinética do sêmen bovino refrigerado sob diferentes períodos de resfriamento.

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, realizou-se a preparação do diluente seminal TRIS-gema de ovo, com base na seguinte formulação: Tris (Tris-hidroximetil-aminometano): 2,42 gramas; ácido cítrico: 1,34 gramas; glicose: 1,00 grama; gema de ovo: 10 mL.

Todos os meios foram pesados, mediante balança de precisão e prosseguiu-se com a dissolução dos mesmos em 100 mL de água Milli-Q. O diluente foi acondicionado em tubos Falcon de 50 mL (Figura 01) e submetido ao processo de filtração, por meio de filtros de seringa estéreis de 0,22 micras.

Figura 01: Diluente TRIS-gema de ovo armazenado em tubos Falcon de 50 mL.



Fonte: arquivo

pessoal.

Após sua preparação e filtração, o diluente TRIS-gema de ovo foi acondicionado em tubos eppendorfs de 1,0 mL, identificados por grupos e acrescido de extrato da casca de noz pecã (ECNP) de acordo com o grupo experimental, como se segue:

- Grupo 1: Diluente TRIS-gema de ovo, com adição de 5% ECNP;
- Grupo 2: Diluente TRIS-gema de ovo, com adição de 10% ECNP.

O extrato da casca de noz pecã utilizado foi concedido por uma professora parceira do estudo. Após, as amostras de diluente e ECNP de cada grupo foi submetida a análise pelo CASA (IVOS-II^R, Hamilton Thorne), a fim de verificar a presença de aglomerados densos em forma de precipitações.

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

4 Resultados e Discussão

Com base em estudos até então realizados, 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, haja vista que, a presença dos mesmos era maior conforme aumentava-se a concentração do ECNP no sêmen diluído.

Dessa forma, optou-se pela utilização de outro diluente seminal, o TRIS-gema de ovo, com concentrações de 5% e 10% do extrato da casca de noz pecã, contudo, também se evidenciou a formação de aglomerados densos nas amostras, o que impossibilitava a avaliação da cinética do movimento espermático, onde cada precipitação era interpretada como uma cabeça de espermatozoide.

Câmera et al. (2018) relataram que a utilização do TRIS-gema de ovo na diluição de sêmen de ruminantes apresenta altas taxas de fertilidade pós-descongelação. Salviano e Souza (2010) salientaram que a constituição da gema de ovo possui propriedades termo protetoras que atuam na proteção da membrana plasmática, restaurando os fosfolipídios perdidos em processos de choque térmico, proveniente das mudanças de temperatura que ocorrem durante as etapas de criopreservação do sêmen. Além de sua proteção a membrana espermática, a gema de ovo é também conhecida por servir como uma fonte proteica dentro do diluente (SANTOS, 2004).

Contudo, 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 a mensuração dos parâmetros referentes à cinética dos espermatozoides após adição do extrato da casca de noz pecã ao diluente TRIS-gema de ovo, apresenta impossibilidade de leitura, tendo em vista, que tais precipitações serão identificadas pelo sistema automático CASA como cabeças de espermatozoides, conferindo assim dados não fidedignos em relação aos parâmetros de motilidade e viabilidade espermática.

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, a fim de minimizar as reações de aglutinação dos componentes.

No estudo, realizou-se a filtração do diluente TRIS-gema de ovo e do extrato da casca de noz pecã, mediante filtros estéreis de 0,22 micras, a fim de avaliar se a filtração seria capaz de minimizar a presença dos aglomerados nas amostras. De acordo com Archanjo et al. (2012), a filtração caracteriza-se pela passagem de soluções por filtros suficientemente pequenos para retenção de microorganismos e outros compostos, contudo, os autores salientaram que o processo de esterilização por filtros pode desencadear perdas de volumes ou até mesmo de constituintes da solução, o que poderia comprometer os objetivos propostos nesse estudo.

Dessa forma, o estudo proposto faz parte de uma linha de pesquisa, encontra-se continuado e readequado, com o intuito de determinar a causa da formação de tais precipitações e também avaliar os impactos da filtração na composição do diluente TRIS-gema de ovo acrescido do extrato da casca de noz pecã. Permitindo 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

Conclui-se por meio dos resultados até então obtidos, que houve formação de

precipitações nas amostras do diluente TRIS-gema de ovo acrescidas com extrato da casca de noz pecã no sêmen bovino, o que inviabilizou a quantificação da viabilidade do estudo, e assim a avaliação da ação do ECNP como antioxidante em diferentes concentrações quando adicionada no sêmen bovino refrigerado.

Referências Bibliográficas

ARCHANJO, A.B. et al. Métodos de esterilização utilizados na indústria farmacêutica, farmácias, laboratórios e clínicas veterinárias. **PUBVET**, v. 6, n. 36, 2012.

CÂMERA, T. S. et al. Diluentes seminais para pequenos ruminantes. **Ciência Animal**, v. 28, n. 2, p. 67-83, 2018.

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.

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

SALVIANO, M.B.; SOUZA, J.A.T. Avaliação andrológica e tecnologia do sêmen caprino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, n.3, p.159-167, 2008.

SANTOS, I.W. **Albumina sérica bovina como fonte proteica do diluidor Tris (hidroximetil amino metano) para congelação do sêmen canino**. 2004. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal. 2004.

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 2021-0233

Financiamento: Fundação Araucária