

EXTRATO DE TRIGO NA CONSERVAÇÃO DE SÊMEN SUÍNO

FRANCISCO DE ASSIS ARAÚJO CAMELO JÚNIOR¹; YARA TAYANA ANDRIOLA²;
PEDRO SICA CRUZEIRO²; CARINE DAHL CORCINI² MÁRCIA DE OLIVEIRA NOBRE³;
THOMAZ LUCIA JR⁴.

¹Universidade Federal de Pelotas – junior_camel01@hotmail.com

²Núcleo de ensino e pesquisa em reprodução animal – ReproPel – Universidade Federal de Pelotas - UFPel-;

yaratayana@hotmail.com ; cruzeiropedro@hotmail.com; corcincid@gmail.com.

³Grupo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Clínica de Pequenos Animais – ClinPet –

Universidade Federal de Pelotas – UFPel – marciaonobre@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – tluciajr@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A inseminação artificial é uma técnica consolidada na suinocultura mundial. Embora tenha sofrido expansão inicial lenta, sendo utilizada em escala limitada nas décadas de 1970 e 80, nos anos de 1990 verificou-se um incremento significativo de sua adoção em todo o mundo. O crescimento da inseminação artificial está vinculado, em muitos países, à expansão da produção de suínos em escala industrial, viabilizando o manejo reprodutivo de grandes plantéis, com vantagens operacionais diante da monta natural (SILVEIRA;SCHEID,2005).

As biotécnicas aplicadas à reprodução na suinocultura estão crescendo e se desenvolvendo cada vez mais no mercado atual, devido às particularidades encontradas nessa espécie, como o grande aporte de lipídeos e proteínas encontrados na membrana plasmática dessas células que as tornam mais sensíveis a baixas temperaturas. Fazendo com que o armazenamento da dose seja comprometido. Portanto, o seu processamento de forma adequada é um dos pontos mais importantes para o sucesso da Inseminação artificial (CASTAGNA, et.al.,2004).

O diluente usado para conservar o sêmen é de suma importância para garantir que as células espermáticas vão continuar viáveis durante o resfriamento, sendo que este deve possuir diversas funções como aumentar o volume do ejaculado, controlar pH, inibir o desenvolvimento bacteriano, manter o balanço osmótico, fornecer nutrientes para produção de energia e proteger os espermatozoides contra o choque térmico (CORRÊA et al., 2001; JOHNSON et al., 2000). Uma forma de melhorar o tempo de armazenamento seria adicionando-o extratos que possuam ação antioxidante para impedir a formação de espécies reativas que alterem a funcionalidade das células e até mesmo as lesionem.

O fitoterápico *Triticum vulgare*, que é uma gramínea de ciclo anual sendo sinônimo de *Triticum aestivum* e é popularmente conhecido como trigo, (SOUZA; LORENZI, 2008) seria uma escolha apropriada. O trigo, desde sua origem, tem como principal finalidade a alimentação, porém, atualmente tem se estudado as propriedades medicinais (SOUZA; LORENZI, 2008), principalmente relacionadas com sua ação antioxidante (MASTROIANNI et al.,1998; OLIVEIRA et al., 2007). A ação antioxidante do extrato natural do trigo se deve pela presença de substâncias bioativas como os compostos fenólicos (OLIVEIRA et al., 2007). No estudo realizado por López e colaboradores (2011) foi verificado que a suplementação alimentícia com trigo melhorou a qualidade seminal de coelhos independente da época do ano.

O objetivo desta pesquisa foi testar um composto natural, extrato de trigo (*Triticum vulgare*), juntamente com o diluente padrão de suínos (BTS) esperando

obter um meio que permita uma melhor conservação do sêmen através do resfriamento.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados 3 machos suínos de linhagem comercial com 300 dias de idade, alojados em baias individuais em um mesmo galpão provenientes do Núcleo de Ensino e Pesquisa em Reprodução Animal- ReproPel na região de Pelotas- RS. O sêmen era colhido pelo método da mão enluvada e as coletas eram realizadas duas vezes por semana (n=54). Após a coleta, a fração rica do ejaculado era diluída em meio "Beltsville Thawing Solution" (BTS) (Minitube®), sendo acrescido extrato de trigo nas concentrações 0,20% (T1) e 0,40% (T2) e conservados a 15°C. As avaliações de motilidade e integridade de membrana foram realizadas imediatamente após a diluição, 0h, e nos períodos de 24h, 48h e 72h.

Para avaliação de motilidade, uma amostra era aquecida a 37°C por 10 minutos e avaliada em microscópio óptico com placa aquecida em um aumento de 200 vezes. Utilizou-se 10 µL de sêmen para leitura, que se aferia a porcentagem de células viáveis.

Na avaliação de integridade de membrana plasmática, utilizou-se 10 µL do sêmen mais 10 µL da sonda, sendo a sonda composta por 970 µL de "Phosphate Buffer Solution" (PBS), 10 µL de Iodeto de Propídio (IP) e 20 µL de Diacetato Carboxifluoresceína (Harrison & Vickers, 1990). A leitura foi realizada em microscopia de fluorescência, no aumento de 1000 vezes. Espermatozoides que apresentaram fluorescência verde na membrana foram considerados íntegros e os que ficaram fluorescência foram considerados células lesadas.

Os resultados destas avaliações espermáticas foram analisados pelo programa statistix 9.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se, em relação às avaliações de motilidade, que o sêmen teve um decréscimo de células viáveis conforme o período de resfriamento se tornava maior. Sabe-se que a conservação do sêmen, através do método de resfriamento a 15°C, dura até 72 horas após a diluição (MURGAS et al., 2002). Todavia, os tratamentos que tiveram acréscimo do extrato de trigo, como se pode observar na FIGURA 1, não houve diferença estatística.

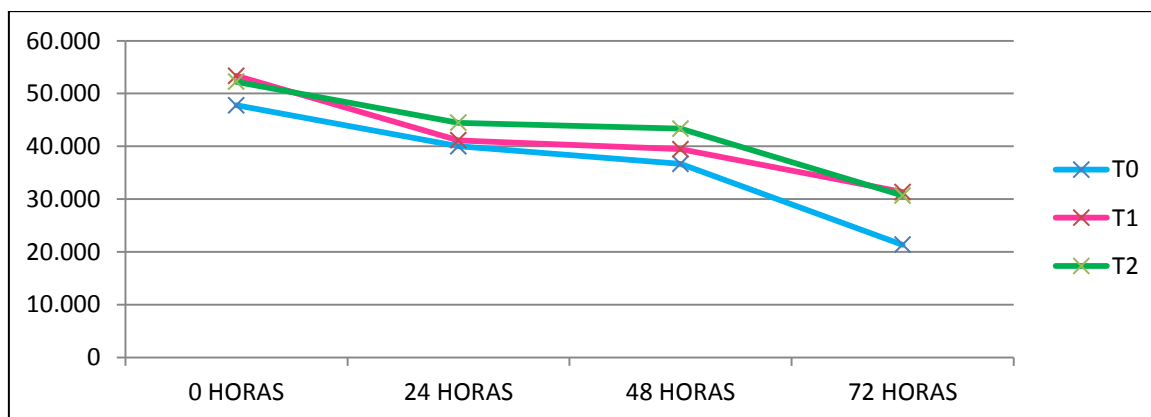


FIGURA 1: Porcentagem de células com motilidade sendo T0= BTS; T1 = BTS + 0,20% de extrato de trigo; e T2 = BTS + 0,40% de extrato de trigo. Não houve diferença estatística entre os tratamentos utilizados pelo teste de Turkey ($P > 0,05$).

De acordo com ALEXOPOULOS et al. (1996) que afirmou que a motilidade seminal de cachaços diluído em BTS e doses inseminantes que continham um, três e cinco bilhões de espermatozoides observou que o índice de motilidade progressiva diminuiu significativamente a partir de 48 horas até 120 horas de conservação do sêmen, sendo que a queda mais acentuada ocorreu com doses inseminantes de cinco bilhões de espermatozoides. Confirmando com o resultado da análise aferida.

Nas avaliações de integridade de membrana plasmática, os grupos avaliados, tanto o controle quanto os acrescidos com extrato de trigo, tiveram uma queda na porcentagem de membranas íntegras nas primeiras 24 horas. Entretanto, nas 48 horas estes resultados demonstraram um decréscimo LENTO na integridade da membrana das células viáveis mantendo uma estabilidade. (FIGURA 2). Contudo, não houve diferença estatística.

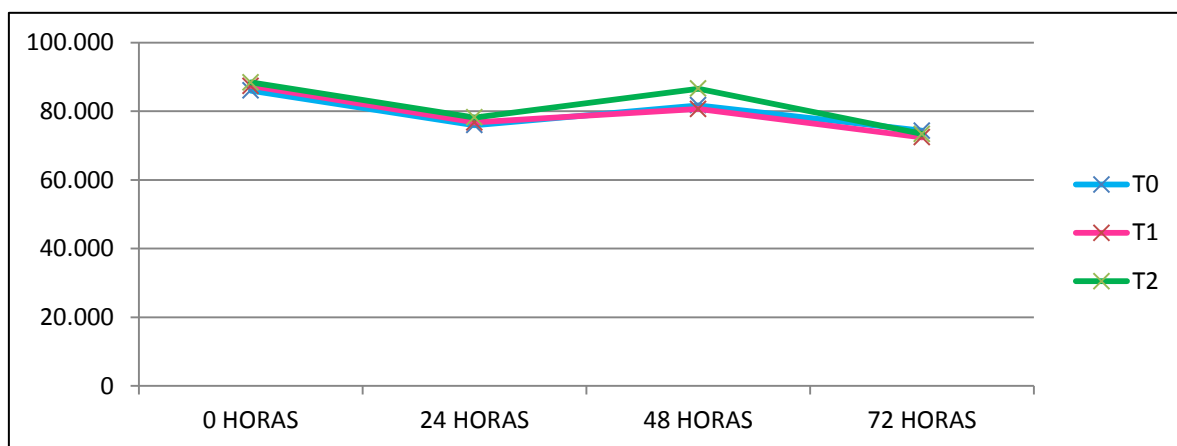


FIGURA 2: Porcentagem de membranas íntegras, sendo (T0= BTS; T1 = BTS + 0,20% de extrato de trigo; e T2 = BTS + 0,40% de extrato de trigo). Não houve diferença estatística entre os tratamentos utilizados pelo teste de Turkey ($P > 0,05$).

Este resultado identificado confirma com os dados da literatura e está relacionado com a composição bioquímica do plasma seminal encontrado na espécie suína. Cujo fator polipeptídico de 26,58kDa está associado à baixa integridade da membrana plasmática do espermatozoide suíno após o congelamento/descongelamento. (BIANCHI et al. 2008). Entretanto, os efeitos biológicos específicos das proteínas do plasma seminal nas funções espermáticas são complexos e não compreendidos totalmente.

4. CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos pode se verificar que a adição do extrato de trigo no diluente de sêmen suíno não prejudica a funcionalidade da célula espermática. Mesmo assim os resultados não foram significativos, a fim de justificar uma melhor preservação das células espermáticas do sêmen resfriado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXOPOULOS, C., BOSCO, C., SARATIS, C. et al. 1996. **The effect of storage time and number of spermatozoa per insemination dose on semen characteristics and fertilizing capacity of boar semen diluted with Beltsville Thaw Solution (BTS) extender.** Anim. Sci., 62(3):599-604.

BIANCHI, I. et al. **Fator do plasma seminal associado à integridade de membrana de espermatozoides suínos pós-descongelamento.** *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* [online]. 2008, vol.60, n.2, pp. 384-388. ISSN 1678-4162.

CASTAGNA, S. M. F. **Associação da prevalência de suínos portadores de Salmonella sp. ao abate e a contaminação de embutidos tipo frescal.** Porto Alegre, 2004. 110 p. Tese - (Doutorado em Ciências Veterinárias na área de Bacteriologia), Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

CONNELL, M. O.; MCCLURE, N.; LEWIS, S. E. M. **The effects of cryopreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial function.** *Human Reproduction* v. 17, p. 704-709, 2002.

CORRÊA M. N.; MEINCKE W.; LUCIA JR. T.; DESCHAMPS J. C. **Inseminação artificial em suínos.** Pelotas: Printpar Gráfica e Editora, 181p, 2001.

HARRISON, R.A.P.; VICKERS, S.E. **Use of fluorescent probes to assess membrane integrity in mammalian spermatozoa.** *Journal of Reproduction and Fertility.* 88, 343-52. 1990

JOHNSON, L. A.; WEITZE, K. F.; FISER, P.; MAXWELL W. M. C. **Storage of boar semen.** *Animal Reproduction Science, Amsterdam,* v. 62, n. 1/3, p. 143-172. 2000.

LÓPEZ, M. F.; DE LARA, R. R.; GAMA, R. B.; ESQUEDA, M. T. S. T.; SÁNCHEZ, D. H.; HERNÁNDEZ P. A. M.; ROMERO O. A. **Rabbit sexual behavior, semen and sperm characteristics when supplemented with sprouted wheat.** *Animal Reproduction Science,* 129, 221–228, 2011.

MASTROIANNI, A.; CELLENO, L.; BORGIA M. G.; CERIMELE, D. **Léstratto acquoso di "Triticum vulgare"- valutazione clinico-istologica Nei processi riparativi tissutali cutanei.** *G Ital Dermatol Venereol,* 133, 145-53, 1998.

MURGAS, L. D. S.; ZANGERÔNIMO, M. G.; SANTOS, A. G. O.; DE OLIVEIRA, S. L. **Oxitocina no sêmen suíno heterospérmico resfriado a 15 °C.** *Ciência Animal Brasileira, Goiânia,* v. 3, n. 2, p. 33-40, Julho/Dec. 2002.

OLIVEIRA, M. S.; DORS, G. C.; SOUZA-SOARES, L. A.; BADIALE-FURLONG, E. **Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais.** *Alim. Nutr.,* 18, 267-275, 2007.

STRZEZEK, J.; WYSOCKI, P.; KORDAN, W. et al. **Proteomics of boar seminal plasma – current studies and possibility of their application in biotechnology of animal reproduction.** *Reprod. Biol.,* v.5, p.279-290, 2005.

SILVEIRA, P. R. S.; SCHEID, I. **Estágio atual da inseminação artificial na suinocultura.** 2005. Disponível em: <http://www.EmbrapaSuínoseaves.htm>. Acesso em: 29 set. 2005

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil.** 2. ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008, p 238-270.