

EFEITOS DA ADIÇÃO DE EXTRATO DE TRIGO SOBRE AS INTEGRIDADES DE MITOCÔNDRIA E DNA ESPERMÁTICO SUÍNO APÓS RESFRIAMENTO

PEDRO SICA CRUZEIRO^{1;2;3}; CARINE DAHL CORCINI^{2;3}; YARA TAYANA ANDRIOLA^{2;3}; FRANCISCO DE ASSIS ARAÚJO CAMELO JR.^{2;3}; MARCIA DE OLIVEIRA NOBRE^{3;4}; THOMAZ LUCIA JR.^{2;3}

¹*Biotecnologia – Ufpel - cruzeiropedro@hotmail.com*

²*Núcleo de Ensino e Pesquisa em Reprodução Animal – ReproPel – UFPel*

³*Universidade Federal de Pelotas – tjlucia@gmail.com*

⁴*ClinPet – Universidade Federal de Pelotas*

1. INTRODUÇÃO

Na década de 90 a suinocultura brasileira possuía 35 milhões de cabeças, o que era equivalente a 61% da população da espécie da América do Sul (INSTITUTTECHNIQUE DU PORC, 1995). O crescimento do plantel na última década foi de 1,6%, enquanto a produção teve um aumento de 300%, tendo como explicação a evolução tecnológica no setor, principalmente na área de genética, nutrição e manejo (TONIOLLI, 2010).

No decorrer dos anos, a inseminação artificial (IA) vem sendo altamente empregada na suinocultura, buscando uma maior eficiência reprodutiva e por consequência maior produtividade dos animais, trazendo maior retorno ao produtor (CASTAGNA et al., 2000). Para a espécie suína, a forma de manutenção de sêmen mais empregada para IA é a refrigeração (BORTOLOZZO & WENTZ, 2002).

Para que o sêmen refrigerado se mantenha viável por um período maior de tempo podem ser adicionados antioxidantes e, com isso, levando a uma melhora no tempo de armazenamento. Um antioxidante utilizado é o fitoterápico *Triticum vulgare*, que é uma gramínea de ciclo anual, sinônimo de *Triticum aestivum*, popularmente conhecido como trigo (SOUZA; LORENZI, 2008). Segundo Oliveira e colaboradores (2007), o extrato de trigo tem uma ação antioxidante que deve-se a presença de substâncias bioativas como compostos fenólicos.

O presente trabalho teve como objetivo testar se a adição do extrato de trigo (*Triticum vulgare*) ao diluente padrão de suínos, o “Beltsville Thawing Solution” (BTS), melhora os parâmetros de integridade de DNA e mitocôndria das células espermáticas após resfriamento.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados 3 machos suínos de linhagem comercial com aproximadamente 10 meses de idade, alojados individualmente em baias no pavilhão do Núcleo de Ensino e Pesquisa em Reprodução Animal – ReproPel, localizado no Campus Capão do Leão da Universidade Federal de Pelotas. A coleta de sêmen foi efetuada duas vezes por semana por meio da técnica de mão enluvada totalizando 54 repetições (n= 54). Após a coleta, foram feitas diluições da fração rica do ejaculado em meio “Beltsville Thawing Solution” (BTS) Minitube®. Logo após, acrescentou-se extrato de trigo nas concentrações de 0,20% (Tratamento 1 – T1) e 0,40% (Tratamento 2 – T2) mantendo as amostras à temperatura de 15°C. Foram realizadas avaliações de integridade de DNA e integridade de mitocôndria em 0h, 24h, 48h e 72h.

A avaliação de integridade de DNA foi feita por meio de coloração de fluorescência com a utilização de sonda Acridine Orange (Bencharifet al., 2010). A integridade da mitocôndria do espermatozoide foi avaliada com uso das sondas fluorescente de diacetato de carboxifluoresceína e iodeto de propídio (Harrison & Vickers 1990). Estas avaliações foram realizadas em microscópio de epifluorescência.

Os resultados foram submetidos à análise estatística com utilização do programa Statistix 9.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação de integridade de mitocôndria, houve um decréscimo na porcentagem de mitocôndrias íntegras durante o período de refrigeração, não havendo entretanto, diferença estatística entre os grupos ($P > 0,05$) (Figura 1).

Nas avaliações de integridade de DNA, foram encontradas as seguintes médias: à zero hora, o grupo controle apresentou 99,7% de integridade, em T1 obteve-se 100%, e em T2 99,9% de integridade. Em 72h, foram apresentadas médias no grupo controle de 100% de integridade, em T1 99,6%, e em T2 obteve-se 100%. Segundo teste de Turkey ($P > 0,05$), não foi apresentada diferença estatística entre os tratamentos.

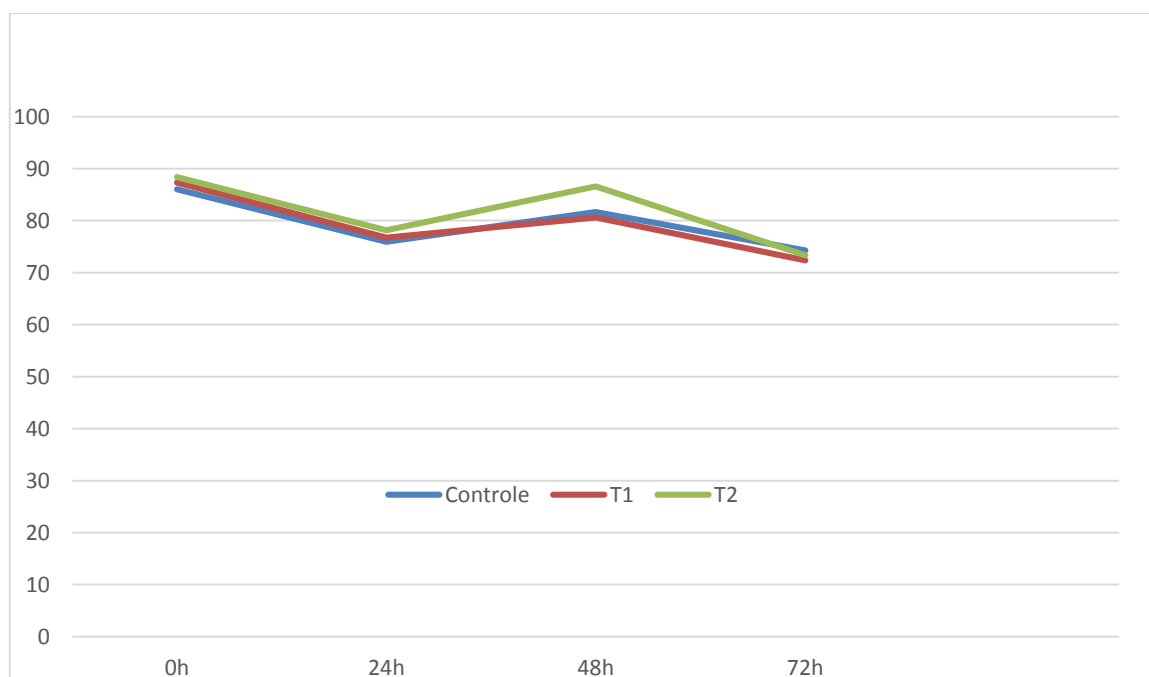


Figura 1: Porcentagem de mitocôndrias íntegras sendo (Controle= BTS; T1 = BTS + 0,20% de extrato de trigo; e T2 = BTS + 0,40% de extrato de trigo). Não houve diferença estatística entre os tratamentos utilizados pelo teste de Turkey ($P > 0,05$).

Os resultados encontrados estão de acordo com o que Connel e colaboradores (2002) constataram, demonstrando que a boa manutenção da integridade de mitocôndria é a principal promotora de energia do flagelo do espermatozoide, fazendo com que ele consiga mover-se e penetrar o oócito.

Neste experimento, a ação antioxidante do extrato de trigo não mostrou-se eficaz, ou seja, não produziu melhora da conservação das células espermáticas da espécie suína a 15°C. Para uma melhor elucidação, são necessários estudos mais aprofundados visando otimizar o protocolo de refrigeração desta espécie.

4. CONCLUSÕES

Podemos concluir que a adição de extrato de trigo ao diluente padrão utilizado para conservação de sêmen suíno (BTS) não foi deletéria para os parâmetros integridade da membrana e do DNA espermáticos. Entretanto, essa adição também não melhorou as características espermáticas avaliadas mantendo-se similar ao controle.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

INSTITUT TECHNIQUE DU PORC. **Le porc par les chiffres**. Paris: ITP, 1995. 40p.

BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I. **Avanços na Inseminação artificial em suínos**. In: I CONGRESSO NORDESTINO DE SUINOCULTURA, Anais. Fortaleza-CE, 2002, p. 56-62.

BENCHARIF, D; AMIRAT, L; PASCAL, O; ANTON, M; SCHMITT, E; DESHERCES, S; DELHOMME, G; LANGLOIS, M-L; BARRIÈRE, P; LARRAT, M; TAINURIER, D. **The Advantages of Combining Low-Density Lipoproteins with Glutamine for Cryopreservation of Canine Semen**. Reprod. Dom. Anim., v. 45 p.189-200, 2010.

CASTAGNA, C. D.; BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I. **Estratégias de inseminação artificial na suinocultura moderna**. In: X Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos, Anais. Porto Alegre-RS, 2001, v. 1, p.143- 150.

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.

HARRISON, R. A. P; VICKERS S. E. **Use of fluorescent probes to assess membrane integrity in mammalian spermatozoa**. J. Reprod. Fert. v. 88 p. 343-352, 1990.

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

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.

TONIOLLI, R. **Recent progresses in these men technology and artificial insemination in swine**. Rev. Bras. Reprod. Anim. Belo Horizonte, v. 34, n. 2, p. 105-113, 2010. Disponível em: www.cbpa.org.br.