

## USO DE BETACAROTENO COMO DILUENTE DE SÊMEN EQUINO

JULIANA RIBEIRO PEGORARO<sup>1</sup>; IZANI BONEL ACOSTA<sup>2</sup>; CARINE DAHL CORCINI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [ribeiropegoraro@gmail.com](mailto:ribeiropegoraro@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [izanibonel@hotmail.com](mailto:izanibonel@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [corcincd@gmail.com](mailto:corcincd@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A utilização de sêmen congelado e refrigerado permite a expansão no uso do material genético de garanhões de alto valor, pois esse material pode ficar armazenado por período indeterminado, podendo ser transportado para locais distantes, reduzindo assim os custos com o transporte dos animais e a possibilidade de transmissão de doenças (OLIVEIRA, 2021).

O perfeito funcionamento do metabolismo celular desse material está diretamente relacionado com sua temperatura de armazenamento. Em temperaturas reduzidas o metabolismo é mais baixo, esse estresse celular leva a formação de radicais livres, que reduzem a fertilidade e motilidade do espermatozóide (BALL, 2008).

A refrigeração apenas reduz o metabolismo celular, mas não o cessa completamente (ALVARENGA et al., 2007). Dessa forma, com o intuito de minimizar os danos causados à célula espermática, estudos tem sugerido a utilização de antioxidantes aos meios de refrigeração e congelamento de sêmen (TONIOLLI et al., 2017)

Beta-caroteno é um pigmento natural presente nos alimentos, especialmente em vegetais e frutas de cor amarelo-alaranjada e em folhosos de cor verde-escura (NAVES, 1998). Os Carotenoides são lipossolúveis e instáveis (MORAIS, 2009), e segundo Schuneman et al (2001) eles são potentes antioxidantes.

Desta forma este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do betacaroteno como um antioxidante na conservação de sêmen equino à 5°C.

### 2. METODOLOGIA

Para esse experimento foram utilizados três equinos reprodutores da raça Crioula, entre 4 a 10 anos de idade, durante a estação de monta. Todos foram coletados através de vaginal artificial modelo Botucatu (Botupharma Ltda, Botucatu, São Paulo, Brasil).

Foram utilizados três formas de tratamento, com concentrações diferentes de betacaroteno. As concentrações correspondiam a 0,00156 mg/mL, 0,0156mg/mL e 0,156 mg/mL, além do tratamento controle, onde não foi adicionado o carotenoide.

Em relação ao tempo de exposição, todos os tratamentos foram analisados no tempo zero, e posteriormente, foram armazenados a 5°C e analisados em 24 e 48 horas após a adição dos tratamentos. As análises foram feitas no equipamento CASA (sistema computadorizado e avaliação espermática), o qual analisa a motilidade progressiva, total, a distância média percorrida e a velocidade média percorrida pelo espermatozoide.

Foi realizada a análise estatística através da comparação entre as médias pelo método ANOVA.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo OLIVEIRA (2021) assim como todas as células que vivem em condições aeróbicas, os espermatozoides, produzem espécies reativas de oxigênio (ROS) como resultado normal do metabolismo do oxigênio. As ROS são conhecidas, também, como radicais livres (QUINTANILHA et al, 2019).

De acordo com NAIR et al (2006), todas as células aeróbicas possuem substratos e enzimas capazes de neutralizar o efeito tóxico das ROS, todavia as defesas antioxidantes do espermatozoide são suscetíveis ao estresse oxidativo.

Esse estresse é resultado da excessiva produção de ROS, que possuem como um dos principais substratos os ácidos graxos, lembrando que os lipídios da membrana espermática são ricos em ácidos graxos poli-insaturados, tornando a membrana plasmática dos espermatozoides o maior alvo das ROS (DA COSTA, et al, 2019). Esse evento tem como consequência a peroxidação lipídica da membrana plasmática do espermatozoide, acarretando entre outros prejuízos, a diminuição da motilidade espermática e fertilidade (OLIVEIRA 2021).

Segundo Bruemmert et al (2002), a adição de antioxidantes aos diluentes pode ser benéfica para a preservação da motilidade e da integridade da membrana espermática. No presente experimento, com a adição do antioxidante betacaroteno, em suas diferentes concentrações e tempo de exposição, a que obteve melhor desempenho em motilidade progressiva e motilidade total em comparação ao tratamento controle, foi a menor concentração (0,00156mg/mL) com exposições de 24 e 48 horas (tabela 1).

Na literatura, não foi encontrado estudos que relatassem a adição de betacaroteno ao diluente de sêmen equino. Em um estudo feito por KUTLUYER et al. (2014), com sêmen *O.mykiss*, uma espécie de peixe, foram testados diversos agentes antioxidantes, entre eles o betacaroteno, entretanto esse antioxidante não apresentou melhorias significativas.

A maior concentração de betacaroteno (0,156mg/mL) com exposição de 48 horas foi o que apresentou pior desempenho em motilidade em comparação ao tratamento controle e aos demais tratamentos, indicando aí uma possível toxicidade (Tabela 1).

Em um estudo feito por KLEDMANEE et al (2013), ele adicionou L-cisteína, como antioxidante, a solução de diluição de sêmen de carpa (*Cyprinus carpio*), onde a concentração de 1mM apresentou resultados positivos, como aumento da duração de motilidade, mas já em concentrações de 2mM apresentou efeitos tóxicos ao sêmen.

**Tabela 1** - Análise da motilidade espermática, com os diferentes tratamentos e tempo de exposição.

Caroteno	Tempo de exposição	Motilidade Total	Motilidade Progressiva
0	0	79,2± 2,4	63,9±3,4 BC
	24	87,6±1,4	71,6±2,4 AB
	48	73,6±1,9	54,7±2,3 CD
0,00156mg/mL	0	76,3± 2,0	56,4±2,9 CD
	24	89,6±1,3	77,6±2,1 A
	48	79,8±1,8 a	64,0±2,7 BC
0,0156mg/mL	0	77,5±1,6	61,3±2,4BC

0,156 mg/mL	24	84,0±1,3	72,5±2,0 AB
	48	65,3±2,1b	49,0±2,3 DE
	0	76,6±1,7	63,6±2,4 BC
	24	74,0±1,9	62,5±2,6 BC
	48	51,7±3,7c	38,3±3,0 E

#### 4. CONCLUSÕES

O tratamento com a menor quantia de betacaroteno (0,00156 mg/mL), obteve um resultado significativamente melhor em motilidade, em relação ao tratamento controle.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, M. A.; M. T. CARMO. Biotecnologia em reprodução equina: O que há de novo para o veterinário de campo. **Brazilian Journal of Equine Medicine**, p.26-30, 2007.

BALL, B.A. Oxidative stress, osmotic stress and apoptosis: Impacts on sperm function and preservation in the horse. **Animal Reproduction Science**, Viena, v.107, p.257-267, 2008.

BRUEMMERT, J. E.; COY, R. C.; SQUIRES, E. L.; GRAHAM, J. K. Effect of pyruvate on the function of stallion spermatozoa stored for up to 48 hours. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.80, p.12-18, 2002.

COSTA, B.B.; STREIT Jr, D.P. Estresse oxidativo e antioxidantes no de sêmen de peixes. **Revista Ciência Animal**, Ceará, v.29, n.2, p.93-109, 2019.

KLEDMANEE, K.; TAWEEDET, S.; THAIJONGRUK, P.; CHANAPIWAT, P.; KAEOKET, K. Effect of L-cysteine on chilled carp (*Cyprinus carpio*) semen qualities. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**, Tailândia, v.43, n.1, p.91-97, 2013.

KUTLUYER, F.; KAYIM, M.; OGRET MEN, F.; BÜYÜKLEBLEBICI, S.; TUNCER, P. B. Cryopreservation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* spermatozoa: Effects of extender supplemented with different antioxidants on sperm motility, velocity and fertility. **Cryobiology**, Canadá, v.69, p.462-466, 2014.

MORAIS, F.L. **Carotenóides: Características biológicas e químicas**. Monografia (Especialização em Qualidade de Alimentos). Curso de Especialização em Qualidade de Alimentos, Universidade de Brasília.

NAIR, S. J.; BRAR, A.S.; AHUJA, C.S.; SANGHA, S.P.S.; CHAUDHARY, K.C. A comparative study on lipid peroxidation, activities of antioxidant enzymes and viability of cattle and buffalo bull spermatozoa during storage at refrigeration temperature. **Animal Reproduction Science**, Viena, v. 96, n. 1, p. 21-29, 2006.

NAVES, M.M.V. Beta - caroteno e câncer. **Revista de Nutrição**, Goiânia, v.11, n.2, 1998.

OLIVEIRA, R.A. Nutracêuticos e antioxidantes na qualidade seminal de garanhões – resultados obtidos na última década. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.45, n.4, p. 191 - 197, 2021.

QUINTANILHA, T.M.; HUF, F. *Espécies reativas de oxigênio e sua ação benéfica ao organismo*. In: **X MOSTRA INTEGRADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, Bento Gonçalves, 2019. Anais X Mostra Integrada de Iniciação Científica. Bento Gonçalves: Centro Universitário Cenecista de Osório, 2019, p. 61.

SCHUNEMANN H.J.; GRANT B.J.; FREUDENHEIM JL, MUTI P, BROWNE RW, DRAKE JA, KLOCKE RA, TREVISAN M. The relation of serum levels of antioxidant vitamins C and E, retinol and carotenoids with pulmonary function in the general population. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, Nova York, v.163, n.5, p.1246-1255, 2001.

TONIOLLI, R.; COSTA, J.M.S. Espécies reativas ao oxigênio, antioxidantes e suas implicações na qualidade do sêmen criopreservado de mamíferos domésticos. **Investigação**, Franca, v.16, n.8, p. 22-29, 2017.