

**Efeito da adição de antioxidante ao meio de congelação sobre a motilidade do espermatozóide caprino após a descongelação**

*Effect of antioxidant addition on the cryopreservation medium on the goat sperm motility after thawing*

Marciane da Silva Maia<sup>2\*</sup>; Iralice Montenegro de Medeiros<sup>3</sup>; Claudio Adriano Correia Lima<sup>3</sup>; Flora Suzane Parente Maia<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Financiado pelo BNB/ETENE/FUNDECI; <sup>2</sup>Embrapa/EMPARN, Natal-RN;

<sup>3</sup>EMATER/ EMPARN, Natal-RN; <sup>4</sup>Graduanda UFPI, Teresina-PI.

\*E-mail: marcianemaia@yahoo.com.br

**ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate the effect of antioxidant Resveratrol added to semen cryopreservation extender, on the maintenance of post-thaw sperm motility. Ejaculates from two bucks of American Alpine breed were evaluated and diluted to contain  $400 \times 10^6$  cells/ml, in Tris-egg yolk extender and supplemented with Resveratrol (4, 6 or 8  $\mu\text{g/ml}$ ), or no antioxidant (control). The semen was loaded into 0.25ml straws, cooled and frozen in a programmable freezer and stored in liquid nitrogen. The supplementation of extender with 4 and 8 mg/ml Resveratrol had a significant ( $P < 0.05$ ) effect on post-thawingsperm motility and TDM, when compared to the control, indicating that the antioxidant was able to protect sperm membranes during the cryopreservation process.

Keywords: freezing, goat semen, Resveratrol,

Palavras-chave: congelação, Resveratrol, sêmen caprino.

**INTRODUÇÃO**

A baixa fertilidade obtida na inseminação artificial (IA) cervical de caprinos com sêmen congelado limita o uso da técnica como rotina de manejo reprodutivo. Uma das razões para a reduzida fertilidade do sêmen congelado são os danos acarretados ao espermatozoide pelo processo de congelação e descongelação. Em parte, esses danos se devem ao acúmulo de produtos tóxicos produzidos pelo metabolismo espermático, entre eles, os metabólitos reativos do oxigênio (ROS, Aitken, 1995) associado à redução da atividade dos antioxidantes no sêmen provocada pela criopreservação (Bilodeau et al., 2000). Sendo assim, a adição de antioxidantes aos meios de congelação de sêmen tem

sido avaliada nas diferentes espécies podendo apresentar um efeito protetor tanto na atividade metabólica, quanto na viabilidade do espermatozoide criopreservado (Sarlóset al., 2002). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição de Resveratrol, ao diluidor sobre a preservação da motilidade do espermatozoide caprino pós-descongelação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Sêmen (LATES) da EMPARN, localizado na Estação Experimental Rommel Mesquita de Faria, no Município de Parnamirin, RN. Foram utilizados dois reprodutores caprinos da raça Alpina Americana, com cerca de três anos de idade, dos quais foram colhidos por meio de vagina artificial, 16 ejaculados. Após a colheita, os ejaculados foram avaliados e submetidos a duas centrifugações (600 x g) para a retirada do plasma seminal. Em seguida o pellet foi ressuspensionado em diluidor Tris-glicose-gema (Tris-hidroximetilaminometano 4,5375 g; ácido cítrico monohidratado 2,6057g; glicose anidra 0,7495 g; gentamicina 13,4 mg; gema de ovo 10% (v/v), Orvus es paste 0,5% (v/v); água destilada para 100 ml e glicerol 10 % (v/v) no meio II, pH 6,8) para uma concentração de  $400 \times 10^6$  spz/ml e dividido em quatro alíquotas de volume igual. Três das alíquotas foram suplementadas com Resveratrol (SIGMA – R5010) nas concentrações de 4, 6 e 8 µg/ml. A congelação foi realizada em sistema automatizado, modelo Tetakon®-TK 3000 (TK Tecnologia em congelação Ltda). As palhetas foram armazenadas em botijão criobiológico e antes das avaliações foram descongeladas em banho-maria à 37°C por 30 segundos. Os dados foram submetidos à ANOVA com comparação de médias pelo teste de Duncan a  $P < 0,05$ .

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A motilidade espermática pós-descongelação foi significativamente maior ( $P < 0,05$ ) nas amostras congeladas com 4 e 8 µg de resveratrol/ml do que no controle. Da mesma forma, o percentual de perda da motilidade após a criopreservação, denominado taxa de degradação da motilidade (TDM) foi significativamente ( $P < 0,05$ ) menor nos diluidores com 4 e 8 µg de resveratrol/ml do que no controle (Tabela 1). O efeito benéfico do Resveratrol na conservação de sêmen também foi observado por Sarlóset al.

(2002) no sêmen ovino. Segundo os autores, esse efeito se deve à alta capacidade do antioxidante em inibir a lipoperoxidação comparado a outros antioxidantes. Já Silva et al. (2011) não observaram efeito significativo do Resveratrol sobre a motilidade do espermatozoide ovino após a descongelação.

**Tabela 1** - Médias  $\pm$  erro padrão dos parâmetros espermáticos no sêmen caprino fresco e congelado em diluidor Tris-gema aditivado ou não de Resveratrol

Parâmetro	MT	VIGOR	VIVOS	NORMAIS	TDM
Sêmen Fresco	81,3 $\pm$ 0,6	4,4 $\pm$ 0,1	81,1 $\pm$ 0,5	83,6 $\pm$ 0,2	-
<u>Pós-descongelação</u>					
Controle	39,4 $\pm$ 2,3 <sup>b</sup>	2,8 $\pm$ 0,1	66,8 $\pm$ 2,4	71,6 $\pm$ 1,9	50,8 $\pm$ 2,8 <sup>a</sup>
4,0 $\mu$ g/ml	47,5 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	2,8 $\pm$ 0,1	69,4 $\pm$ 2,4	76,9 $\pm$ 1,9	41,5 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup>
6,0 $\mu$ g/ml	45,6 $\pm$ 2,3 <sup>ab</sup>	2,8 $\pm$ 0,1	65,6 $\pm$ 2,4	71,8 $\pm$ 1,9	43,8 $\pm$ 2,8 <sup>ab</sup>
8,0 $\mu$ g/ml	50,6 $\pm$ 2,3 <sup>a</sup>	2,9 $\pm$ 0,1	68,5 $\pm$ 2,4	70,0 $\pm$ 1,9	37,3 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup>

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha ou coluna diferem entre si a

P< 0,05 pelo teste Duncan. MT, motilidade espermática; TDM, taxa de degradação da motilidade

## CONCLUSÕES

A adição de Resveratrol ao diluente Tris-gema melhora a congelabilidade, conferindo maior proteção ao espermatozoide contra a crio-injúria, resultando em efeito benéfico na preservação da motilidade pós-descongelação.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AITKEN, R. J. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 7, p. 659-668, 1995.
- BILODEAU, J.F.; CHATTERJEE, S.; SIRARD, M.A.; GAGNON, C. Levels of antioxidant defenses are decreased in bovine spermatozoa after a cycle of freezing and thawing. *Molecular Reproduction and Development*, v.55, n.3, p.282-288, 2000.
- SARLÓS, P. MOLNAR, A.; KOKAI, M. GABOR, G.Y.; RÁTKY, J. Comparative evaluation of the effect of antioxidants in the conservation of ram semen. *Acta Veterinaria Hungarica*, v.50, n.2, p.235-245, 2002.
- SILVA, E.C.B.; CAJUEIRO, J.F.P.; SILVA, S.V.; SOARES, P.C.; GUERRA, M.M.P.