**azeite de oliva sobre a funcionalidade mitocondrial em espermatozoides suínos congelados**

**FREITAS, Clarissa; SILVA, Estela Fernandes e; CARDOSO, Tainã Figueiredo; TAVARES, Geórgia da Cruz; DUVAL, Luzia Hallal; VANZELA, Tassi; CORCINI, Carine Dahl; VARELA JR., Antonio Sergio**

**cissinha4@hotmail.com**

**Evento: XXII Congresso de Iniciação Científica**

**Área do conhecimento: Reprodução Animal**

**Palavras-chave** Estresse oxidativo, Antioxidante, Descongelamento

1 INTRODUÇÃO

O sêmen suíno congelado não é eficaz em nível de produtividade, a fim de obter uma melhoria genética, devido à **sensibilidade** dos espermatozoides aos danos ocorridos durante e após o congelamento. Este processo de congelamento/descongelamento proporciona uma grande formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), gerando um estresse oxidativo (CEROLINI et al., 2001). O azeite de oliva contém uma grande quantidade de antioxidantes naturais, como: carotenoides, tocoferóis, esteróis e compostos fenólicos, que podem atuar como agentes redutores nas células e auxiliar no processo de congelamento (MINIOTI e GEORGIOU, 2008). As mitocôndrias são organelas responsáveis pela obtenção de energia e motilidade dos espermatozoides, sendo fundamentais para o processo de fertilização (PEÑA, 2009). Assim, o objetivo desse estudo foi aquilatar o efeito do azeite de oliva sobre a funcionalidade mitocondrial de espermatozoides suínos no processo de criopreservação.

2 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

O congelamento ocorreu a partir de 21 ejaculados. Os tratamentos investigados para criopreservação foram: Con (apenas diluente de resfriamento - DR contendo 80% de solução de lactose a 11% e 20% de gema de ovo); T1 (0,25 % de azeite de oliva - AO em DR); T2 (0,5% de AO em DR); T3 (0,75% de AO em DR) e T4 (1,0% de AO em DR). Os mesmos foram resfriados a 5°C por 90 minutos, em seguida adicionou-se a esses 5% do crioprotetor interno N,N Dimetilacetamida e 0,5% de *OrvusEx Paste*. O envase ocorreu em palhetas de 0,25 mL na concentração de 5x107 espermatozoides/mL e o congelamento em nitrogênio líquido à -196°C. O descongelamento ocorreu em banho-maria a 37 °C por 30 segundos. A funcionalidade de mitocôndria foi avaliada pelo corante específico Rhodamina 123 e iodeto de propidio, em aumento de 400x em microscópio de epifluorescência, em filtro WU com excitações de 450-490 nm e emissão de 516 – 617 nm. As células que apresentavam a peça intermediária com uma intensa fluorescência verde foram consideradas com mitocôndrias integras (funcionalmente ativas), enquanto as células com baixa fluorescência verde (foscas) na peça intermediária foram consideradas não funcionais. O azeite utilizado era da variedade *Koroneiki,* de oliveiras cultivadas em Bagé/RS. As médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis e todas as análises realizadas no software STATISTIX 9.0 (2008).

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Não houve diferença estatística entre os tratamentos contendo azeite de oliva e o controle (*p*>0,05), para a funcionalidade de mitocôndria (Tab. 1).

Tabela 1- Sêmen descongelado: Média e erro padrão para funcionalidade de mitocôndria (FM).

|  |  |
| --- | --- |
| ***Tratamento*** | ***FM%*** |
| Con | 47,7±5,1 |
| T1 | 50,5±5,4 |
| T2 | 40,7±6,2 |
| T3 | 40,8±5,8 |
| T4 | 40,2±4,8 |

Para os espermatozoides suínos pós-descongelamento o azeite de oliva não gerou toxicidade às células, pois não diferiu do controle. Nota-se que o tratamento T1 apresentou uma tendência numérica de preservação dessa organela, apesar de não diferir estatisticamente. Devido a essa tendência de proteção seria interessante avaliar o papel do azeite de oliva para prolongar a viabilidade do sêmen resfriado.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O azeite de oliva nas concentrações testadas não foi capaz de incrementar a funcionalidade mitocondrial pós-descongelamento.

REFERÊNCIAS

CEROLINI, S.; MALDJIAN, A.; PIZZI, F.; GLIOZZI, T.M. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. **Reproduction,** v.121, p.395–401, 2001.

MINIOTI, K. S.; GEORGIOU, C. A. High throughput .ow injection bioluminometric method for olive oil antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 109, p. 455–461, 2008

PEÑA, F.J.; RODRÍGUEZ MARTÍNEZ, H.; TAPIA, J.A.; ORTEGA FERRUSOLA , C.; GONZÁLEZ FERNÁNDEZ, L.; MACÍAS GARCÍA, B. Mitochondria in mammalian sperm physiology and pathology: a review. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p. 345–349, 2009.