**EXTRATO DE PRÓPOLIS VERDE NO CONGELAMENTO DE SÊMEN SUÍNO**

**BOTELHO, Joziel Gonçalves; CARDOSO, Tainã Figueiredo; SILVA, Estela Fernandes e; CALDAS, Jôsie Schwartz; TAVARES, Geórgia da Cruz; GUAZZELLI, Vitória Gasperin; CORCINI, Carine Dahl; VARELA JR., Antonio Sergio.**

**joziel\_bt@hotmail.com**

**Evento: XXII Congresso de Iniciação Científica**

**Área do conhecimento: Reprodução Animal**

**Palavras-chave:** membrana, mitocôndria, antioxidante

1 INTRODUÇÃO

O congelamento de sêmen suíno ainda não é aplicado em nível comercial, devido principalmente à propensão do espermatozoide suíno ao ataque de espécies reativas de oxigênio (EROs) que o torna mais suscetível à alterações estruturais e funcionais (BUHR et al., 1994; WATSON, 2000). Desta forma, uma alternativa seria a incorporação de antioxidantes ao diluente de congelamento, tal como o extrato de própolis verde, composto que já foi relatado para um amplo espectro de atividades biológicas (CASTILHO, 2009). O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade do extrato de própolis verde no congelamento de sêmen suíno, sobre a qualidade celular de integridade de membrana.

2 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Foram utilizados um total de 20 ejaculados, coletados através da técnica de mão enluvada. Após centrifugação, o *pellet* celular foi resuspenso em diluente de refrigeração, a base de gema de ovo e lactose 11% (DR), adicionado, nos grupos tratamentos de extrato de própolis (20 mg/mL) para concentrações finais de 0,05; 0,1; 0,15 e 0,2% (v/v), em uma concentração celular de 5x107 espermatozoides/mL. Após, foi realizado resfriamento até 5 °C por 90min em geladeira. Ao final deste período, os meios foram resuspensos no diluente de congelamento - 83,5% de DR, 1,5% de *Orvus Ex Paste* e 15% do crioprotetor N, N Dimetilacetamida, para obtenção de uma concentração final de 5% de DMA.

Posteriormente, o sêmen foi envasado em palhetas de 0,25 mL, estabilizados horizontalmente - em vapor de nitrogênio líquido por 10 min e submersas em nitrogênio líquido a -196 °C, sendo armazenadas até o descongelamento em botijão de nitrogênio. O descongelamento ocorreu em banho-maria a 37 °C por 30 segundos.

As amostras descongeladas foram analisadas quanto à qualidade seminal de integridade de membrana. As avaliações de integridade de membrana foram realizadas conforme protocolo descrito por Harrison e Vickers (1990) com modificações, utilizando a combinação das sondas fluorescentes diacetato de carboxifluoresceína e iodeto de propídio, e classificados como: intactos (fluorescência verde) ou não intactos (fluorescência vermelha ou vermelho e verde). As amostras foram analisadas em microscópio de epifluorescência em filtro WU com excitações de 450-490 nm e emissão de 516-617 nm.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Tabela 1: Integridade da membrana (MEM) em espermatozoide suíno, após o descongelamento com diluente incluindo diferentes concentrações de própolis (médias ± EP) – expresso em porcentagem

|  |  |
| --- | --- |
| *Tratamento* | *MEM* |
| Controle | 54.4 ± 6.9 |
| 0,05% | 41.2 ± 7.5 |
| 0,10% | 46.7 ± 7.9 |
| 0,15% | 48.1 ± 7.0 |
| 0,20% | 48.5 ± 8.4 |

 Com relação à integridade de membrana plasmática nenhuma das concentrações testadas contribuiu para diminuir os danos causados pelo congelamento. É possível que o própolis não proporcione uma ação antioxidante capaz de balancear a produção de EROs, produzidos durante o processo.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato de própolis verde não incrementou a integridade de membrana plasmática pós-descongelamento de sêmen suíno.

REFERÊNCIAS

BURH, M.M.; CURTIS, E.F.; KAKUDA, N.S. Compositions and behavior of head membrane lipid of fresh and cryopreserved boar sperm. Cryobiology, v. 31, n.3, p. 224 – 238. 1994.

CASTILHO, E. F.; GUIMARÃES, J. D.; MARTINS L. F. Uso de própolis e ácido ascórbico na criopreservação do sêmen caprino. Revista Brasileira de Zootecnia, v.38, n.12, p.2335-2345. 2009.

HARRISON, R.A.P.; VICKERS, S.E. Use of fluorescent probes to assess membrane integrity in mammalian spermatozoa. **Journal Reproduction Fertility**, v. 88, n. 1, p. 343-352, 1990.

WATSON, P.F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. **Animal Reproduction Science**. v.60-61, p.481-492. 2000.