**Azeite de oliva para o congelamento de sêmen suíno**

**SILVA, Estela Fernandes e; CARDOSO, Tainã Figueiredo; TAVARES, Geórgia da Cruz; SILVA, Janaina Fadrique; FLACH, Mateus Junior; VARELA JR., Antonio Sergio; CORCINI, Carine Dahl**

**estela\_cefet@yahoo.com.br**

**Evento: XV Encontro de Pós-Graduação**

**Área do conhecimento: Reprodução Animal**

**Palavras-chave** Membrana plasmática, motilidade, antioxidante

1 INTRODUÇÃO

O sêmen suíno congelado não é utilizado em nível de produção e em programas de melhoramento genético de forma eficiente devido à alta susceptibilidade dos espermatozoides aos danos ocasionados durante o congelamento. Os processos de congelamento/descongelamento geram um aumento na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e consequentemente um estresse oxidativo (Großfeld et al., 2008). O azeite de oliva, composto oriundo do fruto colhido da oliveria (*Olea europaea*) contém uma grande quantidade de antioxidantes naturais, tais como tocoferóis, esteróis, carotenóides e compostos fenólicos, sendo os o-di-hidroxi-fenólicos potentes antioxidantes (MINIOTI e GEORGIOU, 2008). que asseguram a estabilidade oxidativa durante o armazenamento. Desse modo, a adição de azeite de oliva ao diluente de congelamento, poderia neutralizar a produção de EROs por conter uma mistura de antioxidantes. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência do azeite de oliva como aditivo na criopreservação de sêmen suíno.

2 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

A partir da coleta de um total 21 ejaculados, a motilidade, porcentagem de células móveis, foi avaliada em lâmina sob lamínula aquecida a 37 ºC em microscopia óptica em aumento de 200x (CBRA, 1998). A integridade de membrana plasmática foi avaliada pelas sondas fluorescentes diacetato de carboxifluoresceína e iodeto de propídio, em microscópio de epifluorescência, sendo verdes as células íntegras e vermelhas ou verde/vermelhas as células lesadas de acordo com Harrison & Vickers (1990). 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 *Orvus Ex 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. 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 as analises avaliadas (Tab. 1). Contudo, a integridade de membrana plasmática nos tratamentos T2 e T3 apresentou um valor numérico superior ao controle e aos demais tratamentos. Possivelmente, a mistura de antioxidantes presentes no azeite de oliva protegeu a membrana por neutralizar EROs e consequentemente diminuir a peroxidação lipídica.

A motilidade espermática apresentou níveis inferiores a 20% em todos os tratamentos e em torno de 20% para o controle. Essa queda na motilidade era esperada, pois essa variável é sensivelmente afetada pela geração de EROs durante o processo de congelamento (ARMSTRONG et al., 1999).

Tabela 1- Sêmen descongelado: Média e Desvio Padrão para motilidade (MOT) e integridade de membrana plasmática (IMP)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ***Tratamento*** | ***MOT*** | ***IMP*** |
| Con | 21,1±3,1 | 52,3±9,1 |
| T1 | 14,0±2,1 | 49,5±7,1 |
| T2 | 14,7±2,2 | 63,2±5,7 |
| T3 | 13,5±2,0 | 65,4±6,2 |
| T4 | 14,0±2,3 | 52,9±6,8 |

Para os espermatozoides suínos pós-descongelamento o azeite de oliva não apresentou relevância para manutenção da qualidade espermática. Contudo, uma perspectiva de estudo seria a avaliação do azeite de oliva adicionado ao diluente de resfriamento, para prolongar a vida útil do sêmen resfriado, pois se verificou tendências de proteção à membrana nas concentrações de 0,5 e 0,75%.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O azeite de oliva não gera toxicidade ao sêmen suíno, além de apresentar uma tendência numérica, sem diferença estatística, de proteção e manutenção da viabilidade espermática.

REFERÊNCIAS

ARMSTRONG, J. S.; RAJASEKARAN, M.; CHAMULITRAT, W.; GATTI, P.; HELLSTROM, W. J.; SIKKA, S. C. Characterization of reactive oxygen species induced effects on human spermatozoa movement and energy metabolism. *Free* **Radical Biology & Medicine**, v.26, p. 1377–1390, 1999.

CBRA. 1998. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. 2ª Ed. Belo Horizonte: CBRA, 49.

GROßFELD, R.; SIEG, B.; STRUCKMANN, C.; FRENZEL, A.; W.M.C. MAXWELL, W.M.C. Rath New aspects of boar semen freezing strategies **Theriogenology**, v. 70, p. 1225–1233, 2008.

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

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.