

**EFEITO DO PRÓPOLIS VERDE SOBRE A MOTILIDADE DE  
ESPERMATOZOIDES SUÍNOS CRIOPRESERVADOS**

**BOTELHO, Joziel\*; BEHLING, Vinícius; CARDOSO, Tainã Figueiredo;  
GOULARTE, Karina Lemos; SILVA, Estela Fernandes e; SILVA, Janaína  
Fadrique; GUAZZELLI, Vitória Gasperin; TAVARES, Geórgia da Cruz; CORCINI,  
Carine Dahl; VARELA JR., Antonio Sergio  
\*joziel\_bt@hotmail.com**

**Evento: XIII Congresso de Iniciação Científica  
Área do conhecimento: Reprodução animal**

**Palavras-chave:** Criopreservação, antioxidante, pós-descongelamento

## **1 INTRODUÇÃO**

A técnica de criopreservação de sêmen é comumente utilizada por facilitar o intercâmbio de material genético, entretanto, ainda não atingiu um nível de padronização para a espécie suína, principalmente devido às características intrínsecas da célula espermática desta espécie, e da propensão do espermatozoide suíno ao ataque de espécies reativas de oxigênio (ERO), que reduz a sobrevivência espermática pós-descongelamento (CEROLINI et al., 2001). Uma maneira para superar esse problema seria a incorporação de antioxidantes no diluente de congelamento, como o extrato de própolis verde, composto com um amplo espectro de atividades biológicas (CASTILHO, 2009), tal como seu efeito protetor já relatado aos espermatozoides humanos *in vivo*. Assim, este trabalho objetivou avaliar a utilização do extrato de própolis verde, em diferentes concentrações, no congelamento de sêmen suíno, sobre a motilidade espermática.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

A criopreservação de sêmen suíno não é aplicada em nível comercial em função da baixa sobrevivência espermática pós-descongelamento devido, em grande parte, às ERO. Assim, a adição de antioxidantes, como aqueles presentes no própolis verde, poderia aumentar a sobrevivência espermática pós-descongelamento por neutralizar ERO.

## **3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)**

Utilizou-se 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 (80% v/v) e lactose a 11% (20% v/v) (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). Após, foi realizado resfriamento até 5 °C por 90min em geladeira. Em seguida, adicionou-se às amostras o diluente de congelamento - 83,5% de DR, 1,5% de *Orvus Ex Paste* (detergente sintético) e 15% do crioprotetor N, N Dimetilacetamida (DMA), para obtenção de uma concentração final de 5% de DMA. A concentração celular após estes procedimentos foi de de  $5 \times 10^7$  espermatozoides/mL.

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 à -196 °C, sendo armazenadas até o descongelamento em botijão

# 13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

de nitrogênio. O descongelamento ocorreu em banho-maria a 37 °C por 30 segundos e a avaliação da motilidade espermática foi realizada após a incubação das amostras em 2,5 mL de BTS por 10 minutos a 37 °C.

Uma alíquota de 20 µl de cada amostra foi avaliada com visualização em microscopia óptica com placa aquecida com aumento de 200x, por um mesmo avaliador treinado, em uma lâmina coberta por lamínula, ambas previamente aquecidas a 37 °C (CBRA, 1998). Foi considerada como motilidade espermática a porcentagem de células móveis em movimento retilíneo sobre o total de células. As médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis no software STATISTIX 9.0 (2008).

## 4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Tabela 1: Motilidade espermática (MOT), após o descongelamento de sêmen suíno com diluente incluindo diferentes concentrações de própolis (Médias ± Erro Padrão) – expresso em porcentagem.

<i>Tratamento</i>	<i>MOT</i>
Controle	21.6 ± 3.2
0,05%	14.7 ± 2.2
0,10%	17.9 ± 1.9
0,15%	12.8 ± 2.3
0,20%	13.9 ± 2.1

Com relação à motilidade espermática, nenhuma das concentrações testadas contribuiu para diminuir os danos causados pelo congelamento, corroborando com os dados obtidos por Castilho et al. (2009). Contudo, ocorre diminuição numérica na motilidade com um aumento de concentração de própolis. Recentes estudos demonstram que altas concentrações de extrato de própolis podem ser tóxicas às células espermáticas, concentrações maiores que 2 mg/ml causaram danos aos espermatozoides, estes permaneceram em repouso ou tiveram movimentos insignificantes (CASTILHO, 2009).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato de própolis verde não incrementou a motilidade espermática pós-descongelamento de sêmen suíno.

## REFERÊNCIAS

CASTILHO, E. F.; et al., Uso de própolis e ácido ascórbico na criopreservação do sêmen caprino. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.12, p.2335-2345. 2009.

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

CEROLINI, S.; et al., Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. **Reproduction**, v.121, p.395–401, 2001.

MALO, C.; et al., Anti-oxidant supplementation improves boar sperm characteristics and fertility after cryopreservation: comparison between cysteine and rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **Cryobiology**, v.61, n.1, p.142–147. 2010

## **13ª Mostra da Produção Universitária**

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.