



SELÊNIO EM DILUENTE PARA CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN OVINO NÃO ALTERA BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO

Luiza Gazeta Passos¹, Fábio Gallas Leivas², Francielli Weber Santos Cibin³, Gabriel Jordani Caravagio Alves⁴, Jéssica Ferreira Rodrigues⁴, Diogo Ferreira Bicca⁴.

¹ Discente e Autor, Universidade Federal do Pampa Campus Uruguaiana, ²Docente e Orientador, Universidade Federal do Pampa, ³Co-orientador, Universidade Federal do Pampa, ⁴Co- autores, Universidade Federal do Pampa.

e-mail: luizapassos.aluno@unipampa.edu.br

A ovinocultura nacional vem obtendo destaque ao longo dos anos, registrando um aumento do rebanho de 4,1% de 2018 para 2019, segundo a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. Paralelamente, os processos de inseminação artificial e criopreservação do sêmen têm sido alvo de estudos com objetivo de melhorar a taxa de reprodução dos rebanhos de ovinos. Assim, o aprimoramento das técnicas de criopreservação é fundamental, uma vez que se conserva o material genético por um maior período, além de facilitar o fluxo de amostras de sêmen para diversos lugares. A criopreservação causa danos a célula espermática, verificados pelas alterações na fluidez das membranas, bem como em proteínas e no DNA, com envolvimento de mecanismos causados pelo estresse oxidativo. Por isso, experimentos com antioxidantes, como o selênio, têm sido considerados benéficos, a fim de preservar a morfologia e qualidade da célula espermática durante o processo de criopreservação, uma vez que este processo causa estresse ao espermatozoide, prejudicando sua viabilidade. Diante deste cenário, o presente estudo teve como objetivo avaliar se a suplementação com selênio inorgânico (selenito de sódio) e uma forma orgânica (selenofuranosídeo) do diluente utilizado para criopreservação do sêmen ovino, resfriado por 2h e 4h, possui a capacidade de promover benefícios sobre o desequilíbrio em biomarcadores de estresse oxidativo provocado pela criopreservação, entre eles: espécies reativas de oxigênio (ERO), peroxidação lipídica, capacidade antioxidante total e atividade da enzima glutatona peroxidase (GPx). Para isto, foram utilizados quatro carneiros das raças Ideal e Merino de 18 meses de idade. O experimento foi conduzido em Uruguaiana (Rio Grande do Sul) durante os meses de novembro e dezembro, sendo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pampa (017/2019). O sêmen foi coletado duas vezes por semana com o auxílio de uma vagina artificial, sendo posteriormente avaliado o volume, aspecto, a motilidade e morfologia. Somente o sêmen com qualidade comprovada pela avaliação destes parâmetros foram utilizados no estudo. O diluente de eleição foi o Tris-gema, sendo este suplementado com selenito de sódio (SeNa: 0,5 e 1 μ M) para um grupo e selenofuranosídeo (ORG: 0,5 e 1 μ M) para o outro. Além destes, foi separado um grupo controle, no qual o sêmen foi diluído apenas com o Tris-gema, sem antioxidantes. Em seguida, o sêmen foi armazenado manualmente em palhetas (IMV® Technologies, L'Aigle, Cedex, France) de 0,25mL em temperatura ambiente, para depois ser resfriado a 5°C. Todos os grupos foram submetidos a duas diferentes curvas de resfriamento, 2h e 4h, totalizando 10 grupos. O congelamento das palhetas foi realizado em um cilindro de nitrogênio a -196°C. Para as

análises, as amostras foram descongeladas em água a 37°C por 30 segundos. A análise estatística foi realizada por meio de Anova de duas vias seguida de teste Tukey para avaliação post hoc, através do software GraphPad Prism 8.0.1, considerando estatisticamente significativos os valores com $P < 0,05$. Para avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo, os níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) foram mensurados com a 2', 7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato (DCHF-DA), corante que detecta a produção de ERO. Já a peroxidação lipídica foi realizada por meio da reação responsável por detectar as espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) utilizando o malondialdeído como padrão. A capacidade antioxidante total (FRAP) foi realizada pela capacidade de reduzir o ferro (Fe^{+3} em Fe^{+2}), utilizando o reagente TPTZ. Em relação à atividade da enzima GPx, esta foi mensurada pela conversão da nicotinamida-adenina-dinucleótido (NADPH) em NADP⁺. Não houve diferenças significativas nos parâmetros avaliados, tanto em relação aos tratamentos com selênio (nas duas concentrações estudadas) quanto em relação aos tempos de resfriamento (2 e 4 h) utilizados. Sendo assim, a suplementação com selênio tanto na forma inorgânica quanto orgânica, nas concentrações utilizadas e nos tempos de resfriamento, não mostrou benefícios nos marcadores de estresse oxidativo avaliados. Outros estudos são necessários para avaliar um possível benefício desta suplementação sobre a criopreservação, como a avaliação cinética e de viabilidade espermática em sêmen ovino submetido ao processo de criopreservação.

Agradecimentos: CNPq, CAPES, FAPERGS e UNIPAMPA.

Palavras-chave: Sêmen, carneiro, estresse oxidativo, criopreservação, selênio.

