

## **EXTRATO DE PRÓPOLIS VERDE PARA ACONDICIONAMENTO DE SÊMEN EQUINO A 5°C**

**DUVAL, Luzia Hallal<sup>1</sup>; GHELLER, Stela Mari Meneghello<sup>1</sup>; VANZELA, Tassi<sup>1</sup>; FERREIRA, Ranquetat, Carlos Eduardo<sup>1</sup>; CORCINI, Carine Dahl<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Grupo de Pesquisa Repropel – Faculdade de Veterinária – UFPel

E-mail: [luzia\\_hallal\\_duval@hotmail.com](mailto:luzia_hallal_duval@hotmail.com). Site: <http://www.ufpel.tche.br/fvet/repropel-pigpel>

### **1. INTRODUÇÃO**

A Inseminação Artificial (IA) é uma biotécnica reprodutiva que possibilita a utilização de indivíduos geneticamente e zootecnicamente superiores, com menores custos por serviço, permitindo um rápido ganho genético (Pugliesi, et al. 2008). A IA em equinos é largamente praticada em todo o mundo, utilizando sêmen resfriado para transporte (Loomis, 2006). Entretanto, o processo de resfriamento do sêmen causa mudanças na célula espermática, tendo como resultado a redução da motilidade e do número de espermatozoides viáveis, com prejuízo no transporte espermático no trato reprodutivo da fêmea e, conseqüentemente, na fertilidade (Lebouf et al., 2000).

O sêmen resfriado a 5°C possui viabilidade de até 72 horas após a ejaculação, entretanto, a fertilidade do sêmen depende de muitos fatores, como a taxa de resfriamento, temperatura de armazenamento, composição do meio extensor (diluyente), dose inseminante, número de inseminações, qualidade do sêmen a fresco e manuseio do sêmen (Malmgren, 1998; Batelier et al., 2001).

Para uma boa taxa de fertilidade através da IA com o sêmen resfriado, faz-se necessário que o diluyente mantenha sua viabilidade por um período prolongado. Porém o estresse oxidativo é um fator associado à diminuição da fertilidade durante a estocagem do sêmen, sendo o extrato de própolis uma alternativa como antioxidante (Castilho et al 2009). O objetivo desse trabalho é avaliar o efeito da adição de própolis verde ao diluyente para sêmen equino e sua ação em diferentes concentrações na célula espermática sobre as suas características físicas.

### **2. METODOLOGIA**

O experimento relatado foi realizado na Universidade Federal de Pelotas, sendo as coletas realizadas no Hospital de Grandes Animais da Faculdade de Medicina Veterinária. As análises foram realizadas no Laboratório de Reprodução Animal, da mesma faculdade.

Para esse experimento foi utilizado um garanhão, de fertilidade conhecida, sendo realizadas quatro coletas no período de um mês (maio e junho de 2012). O sêmen do garanhão era obtido através do método de coleta com vagina artificial modelo Botucatu.

Após a coleta macho, retirava-se uma alíquota de sêmen para a mensuração da concentração espermática total do ejaculado realizada em câmara de Neubauer, avaliação da motilidade determinada pelo percentual de células móveis identificadas no campo do microscópio óptico com placa aquecedora, em aumento de 200x (Bearden e Fuquay, 1997) em escala de 0 – 100% (CBRA 1998) realizadas por técnico devidamente treinado. Em seguida o sêmen foi diluído em tratamento controle (leite desnatado) e quatro concentrações de própolis verde (0,6%, 1,25%, 2,5% e 5%). As avaliações de sêmen foram feitas logo após a diluição e aquecidas em banho-maria (37°C) por 10 minutos. As análises realizadas para avaliar a toxicidade do diluente foram motilidade e vigor espermáticos, durante 0, 10, 20, 30, 60, 300, 1.440 e 2.880 minutos após a diluição.

Os dados foram analisados por teste não paramétrico Kruskal-Wallis através do *software* Statistix 9.0® (2008).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 demonstra que conforme decorrido o tempo de acondicionamento, a motilidade das células espermáticas apresentaram uma queda progressiva. Fato este, comprovado por outros estudos, os quais descrevem que a viabilidade do sêmen resfriado é de 1 a 2 dias (Pugliesi et al., 2008).

Durante a primeira avaliação de motilidade (zero) observa-se que o controle apresentou a maior taxa, seguido dos demais tratamentos sendo que com 5% de própolis observou-se a menor motilidade (Tab. 1). Após 30 minutos, a motilidade em relação a todos os outros tratamentos não apresentou diferença significativa, o que demonstra que a adição do extrato de própolis no ejaculado pode ser considerada uma alternativa para um transporte curto com o sêmen resfriado. Comprova então que este substrato proporciona ATP para as células espermáticas, já que estas necessitam de uma fonte de energia para os seus movimentos progressivos (ElMazoudy et al., 2011). Estes resultados se repetem até 300 minutos sem diferença significativa na motilidade entre as amostras avaliadas. Tendo em vista isto, esse experimento comprova que, com essa alternativa, o sêmen permanece viável e com capacidade de fertilização até 300 minutos, já que o resultados se assemelham com os valores médios de motilidade e vigor descritos pelo CBRA, 1998.

Tabela 1– Resultados de motilidade por tratamento.

Minutos	Concentração de própolis				
	0	0,6	1,25	2,5	5
0	80±0 a	75±7,5 ab	77,5±5 ab	72,5±5 ab	67,5±5 b
30	56,7±20,6 a	53,3±15 a	60±8,9 a	61,7±16 a	58,3±11,7 a
60	60±20 a	60±14,1 a	60±11,5a	60±14 a	52,5 ±17,1 a
300	60±10 a	66±11,5a	56,7±15 a	53,3±11,5 a	53,3 ±11,5 a
1440	47,5±15 a	50±8,2 a	27,5±9,6 ab	35±19,1 ab	12,5±8,9 b

<sup>a,b</sup> Expoentes diferentes indicam diferença estatística na coluna ( $p < 0,05$ ).

Os resultados encontrados nesse experimento corroboram com os descritos com (Castilho et al., 2009), que testou a própolis como aditivo no diluente em sêmen de caprinos e não encontrou diferenças significativas na análise de motilidade em diferentes concentrações de própolis no sêmen fresco.

Durante a última avaliação somente o tratamento controle e com adição de 0,6 % apresentaram motilidade semelhante, sugerindo que maiores concentrações de própolis podem se apresentar tóxicas para a célula espermática de equinos, corroborando com os dados obtidos por (Chaves et al 2008), que demonstrou a toxicidade do extrato frente ao sêmen equino.

Dados obtidos por Russo et al (2004), observaram que a adição de própolis apresentou efeito protetor sobre a célula espermática de humanos, fato não comprovado neste experimento, visto que os espermatozoides apresentaram queda na motilidade nos cinco tratamentos e reduzido tempo de armazenamento.

Deve ser considerado que as coletas foram realizadas fora da estação reprodutiva dessa espécie, podendo haver, desse modo, alguma interferência na qualidade do sêmen. Os resultados obtidos no experimento sugerem a realização de novas análises, como integridade de membrana, mitocôndria e acrossoma, para a avaliação do efeito da adição de própolis verde sobre a célula espermática.

#### 4. CONCLUSÃO

A utilização do extrato de própolis verde reduz a motilidade espermática nas concentrações avaliadas independentemente do tempo de armazenamento.

#### 5 REFERÊNCIAS

BATELLIER, F.; VIDAMENT, M.; FAUQUANT, J.; DUCHAMP, G.; ARNAUD, G.; YVON, J.M.; MAGISTRINI, M. Advances in cooled semen technology. **Animal Reproduction Science**. Vol.68, p.181–190, 2001.

CANISSO, I.F., SOUZA, F.A., SILVA, E.C., CARVALHO, G.R., GUIMARÃES, J.D., LIMA, A.L. Inseminação artificial em equinos: sêmen fresco, diluído, resfriado e transportado. **Revista Acadêmica Ciência Agrária Ambiental**. v. 6, n. 3, 389-398. 2008.

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

CBRA: COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte: CBRA, 1998, 49 p.

CHAVES; K. R.; OLIVEIRA; R.R.; CARVALHO; G.R., MARTINS; L.F.; MESSAGE; D.; GUIMARÃES; J.D. Efeito da adição da própolis ao meio diluidor sobre as características físicas do sêmen equino resfriado A 5°C E 15°C. **Associação Brasileira dos Médicos Veterinários de Equídeos (ABRAVEC 2008)**. Disponível em: [http://www.abraveq.com.br/artigos\\_02.php](http://www.abraveq.com.br/artigos_02.php) acessado em 17/07/2012.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL – CNA. **Estudo do complexo do agronegócio do cavalo no Brasil**. Brasília: CNA, 2006.

EIMazoudy, R.H, Attia, A.A., El-Shenawy, N.S. Protective role of propolis against reproductive toxicity of chlorpyrifos in male rats. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. V. 101 p.175–181, 2011.

LEBOUF, B.; RESTALL, B.; SALAMON, S. Production and storage of goat semen for artificial insemination. **Animal. Reproductive. Science.**, v.62, n. 1-3, p.113-141, 2000.

LOOMIS, P. R. Advanced methods for handling and preparation of stallion Semen. **Veterinary Clinics North American Equine Practice**, v. 22, n. 3, p. 663-676, 2006.

MALMGREN, L. Effectiveness of two systems for transporting equine semen. **Theriogenology**, v.50, p.833-839, 1998.

OCHSENDORF, F.R. Infections in the male genital tract and reative oxygen species. **Human Reproduction**, v.5, n.5, p.399-420, 1999.

OLIVEIRA, R.R.; GUIMARÃES, J.D.; CHAVES, K.A. et al. Efeito da adição de própolis ao meio diluidor e suas influências nas características físicas do sêmen equino resfriado a 5°C. In: **SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 18., 2007, Viçosa, MG. Anais... Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. (CD-ROM).

PUGLIESI, G.; DE CARVALHO, G. R.; SARTORI, S. S.; KER, P. G.; OLIVEIRA, R. R. DE; BISPO, C. A. S. Viabilidade e fertilidade do sêmen equino resfriado à 5 °C com dois diferentes diluidores. **Anais Conbravet**, R1259-1, 2008.

RUSSO, A.; TRONCOSO, N.; SANCHEZ, F.; GARBARINO, J.A.; VANELLA, A. Propolis protects human spermatozoa from DNA damage caused by benzo[a]pyrene and exogenous reactive oxygen species. **Life Sciences** v. 78 pg. 1401 – 1406, 2006.