

# EFEITO DA ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTES SOBRE A VIABILIDADE DO SÊMEN BOVINO

Amanda Formigoni da Silva<sup>1</sup>  
 Ana Paula Zanfrilli dos Santos<sup>2</sup>  
 Carlos Renato de Freitas Guaitolini<sup>3</sup>  
 Antonio Campanha Martinez<sup>4</sup>  
 Rosiara Rosaria Dias Maziero<sup>5</sup>

SILVA, A. F. da; SANTOS, A. P. Z. dos; GUAITOLINI, C. R. de F.; MARTINEZ, A. C.; MAZIERO, R. R. D. Efeito da adição de antioxidantes sobre a viabilidade do sêmen bovino. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 21, n. 4, Anais do II Concivet 2018, p. 145-146, out./dez. 2018.

**RESUMO:** Os antioxidantes atuam no combate aos efeitos nocivos provocados pelos radicais livres, proporcionando melhor qualidade do sêmen fresco e criopreservado. As mudanças de temperatura provocadas durante os processos de congelação e descongelação são responsáveis pelos danos aos espermatozoides, alterando sua viabilidade e fertilidade. O estudo dos antioxidantes, os quais constituem a primeira linha de combate às espécies reativas de oxigênio (EROs), para a melhora da qualidade do sêmen criopreservado, torna-se de fundamental importância, para desenvolvimento de protocolos padrões e aplicáveis, uma vez que existem muitas controvérsias em relação ao tipo de molécula antioxidante e às doses, o momento adequado para ser acrescentado e possíveis alterações destes aos meios de criopreservação. Assim, este trabalho tem como objetivo estudar o efeito dos antioxidantes: catalase,  $\alpha$ -tocoferol e piruvato de sódio adicionados em meio diluidor comercial para melhorar a viabilidade do sêmen bovino criopreservado. Inicialmente foram utilizados três touros, da raça *Brahman*, selecionados de acordo com o escore de condição corporal e exame andrológico. Oito ejaculados foram colhidos por eletroejaculação e imediatamente avaliados a motilidade e o vigor espermático. Em seguida, foram diluídos conforme os grupos experimentais em meio Botubov® (Botupharma Biotecnologia Animal) com adição do antioxidante piruvato de sódio nas concentrações de 1,5  $\mu$ M, 3  $\mu$ M e 5  $\mu$ M e em seguida, as amostras foram congeladas. Numa segunda etapa, serão utilizados outros antioxidantes e concentrações, conforme descrito: 1) Diluidor BotuBov®; 2) Diluidor BotuBov® contendo 7% de crioprotetor e catalase nas concentrações de 20, 80 e 200 UI; 3) Diluidor BotuBov® contendo 7% de crioprotetor e  $\alpha$ -tocoferol nas concentrações de 50  $\mu$ M, 100  $\mu$ M e 150  $\mu$ M; 4) Diluidor BotuBov® contendo 7% de crioprotetor e piruvato de sódio nas concentrações de 1,5  $\mu$ M; 3,5  $\mu$ M e 5  $\mu$ M. Após a descongelação do sêmen com a utilização do piruvato, as amostras foram analisadas quanto à motilidade total e progressiva e vigor espermático. Verificou-se que a adição de piruvato de sódio na concentração de 1,5  $\mu$ M proporcionou uma melhora nos parâmetros de motilidade total e vigor espermático, demonstrando os benefícios de seu uso.

**PALAVRAS-CHAVE:** Análises espermáticas. Congelação. Fertilidade. Piruvato de sódio.

## ADDITION OF ANTIOXIDANTS ON THE FEASIBILITY OF BOVINE SEMEN

**ABSTRACT:** Antioxidants act in fighting the harmful effects caused by free radicals, providing better quality of both fresh and cryopreserved semen. Changes in temperature caused during the freezing and thawing processes are responsible for damages to the sperm, changing their viability and fertility. The study of antioxidants, which constitute the first line of combat against reactive oxygen species (ROS) to improve the quality of cryopreserved semen, is of utmost importance for the development of standard and applicable protocols, since there are many controversies regarding the type and the doses of antioxidant molecules, the timing for its addition and likely changes to the cryopreservation media. This paper aims at studying the effects of catalase,  $\alpha$ -tocopherol, and sodium pyruvate when added to commercial diluent medium to improve the viability of cryopreserved bovine semen. Initially, three Brahman bulls were selected according to the body condition score and andrological examination. Eight ejaculates were collected by electroejaculation, with motility and spermatic vigor being immediately assessed. Subsequently, the samples were diluted according to the experimental groups in Botubov® (Botupharma Animal Biotechnology) medium with the addition of sodium pyruvate at concentrations of 1.5  $\mu$ M, 3  $\mu$ M and 5  $\mu$ M and were subsequently frozen. In a second step, other antioxidants and concentrations will be used, as follows: 1) BotuBov® Diluent; 2) BotuBov® diluent containing 7% cryoprotectant and catalase at concentrations of 20, 80 and 200 IU; 3) BotuBov® diluent containing 7% cryoprotectant and  $\alpha$ -tocopherol at concentrations of 50  $\mu$ M, 100  $\mu$ M and 150  $\mu$ M; 4) BotuBov® diluent containing 7% cryoprotectant and sodium pyruvate at concentrations of 1.5  $\mu$ M; 3.5  $\mu$ M and 5  $\mu$ M. After thawing the semen with pyruvate, the samples were analyzed for total and progressive motility and spermatic vigor. It was found that the addition of 1.5  $\mu$ M sodium pyruvate provided an improvement in total motility and sperm vigor parameters, demonstrating the benefits of its use.

DOI: 10.25110/arqvvet.v21i4.2018.7342

<sup>1</sup>Acadêmica do curso de Medicina Veterinária. Bolsista PIBIC/UNIPAR. E-mail: amandaformigoni@gmail.com

<sup>2</sup>Acadêmica do curso de Medicina Veterinária. Bolsista PIC/UNIPAR. E-mail: anazanfrilli@hotmail.com

<sup>3</sup>Médico Veterinário Autônomo. E-mail: carlosrfg@hotmail.com

<sup>4</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Maringá. E-mail: antunico@gmail.com

<sup>5</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária e do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense. E-mail: rosaramaziero@prof.unipar.br

**KEYWORDS:** Fertility. Freezing. Sperm analysis. Sodium pyruvate.

## EFECTO DE LA ADICIÓN DE ANTIOXIDANTES BAJO LA VIABILIDAD DEL SEMEN BOVINO

**RESUMEN:** Los antioxidantes actúan en el combate a los efectos nocivos provocados por los radicales libres, proporcionando mejor calidad del semen fresco y criopreservado. Los cambios de temperatura provocados durante los procesos de congelación y descongelación son responsables por los daños a los espermatozoides, alterando su viabilidad y fertilidad. El estudio de los antioxidantes, que constituyen la primera línea de combate a las especies reactivas de oxígeno (ERO), para la mejora de la calidad del semen criopreservado, se hace de fundamental importancia para el desarrollo de protocolos estándares y aplicables, ya que existen muchas controversias en relación al tipo de molécula antioxidante y a las dosis, el momento adecuado para ser añadido y posibles alteraciones de éstos a los medios de criopreservación. Así, este estudio ha tenido como objetivo estudiar el efecto de los antioxidantes: catalasa,  $\alpha$ -tocoferol y piruvato de sodio añadidos en medio diluidor comercial para mejorar la viabilidad del semen bovino criopreservado. Inicialmente se utilizaron tres toros, de la raza Brahman, seleccionados de acuerdo con la puntuación de condición corporal y examen andrológico. Ocho eyaculados fueron recogidos por electroejaculación e inmediatamente evaluados la motilidad y el vigor espermático. A continuación, se diluyeron de acuerdo con los grupos experimentales en medio Botubov (Botupharma Biotecnología Animal) con adición de antioxidante piruvato de sodio a concentraciones de 1,5  $\mu$ M, 3  $\mu$ M y 5  $\mu$ M, y luego las muestras se congelaron. En una segunda etapa, se utilizarán otros antioxidantes y concentraciones, según se describe: 1) Diluidor BotuBov®; 2) Diluidor BotuBov® contenido 7% de crioprotector y catalasa en las concentraciones de 20, 80 y 200 UI; 3) Diluidor BotuBov® que contiene 7% de crioprotector y  $\alpha$ -tocoferol en las concentraciones de 50  $\mu$ M, 100  $\mu$ M y 150  $\mu$ M; 4) Diluidor BotuBov® contenido 7% de crioprotector y piruvato de sodio en las concentraciones de 1,5  $\mu$ M; 3,5  $\mu$ M y 5  $\mu$ M. Después de la descongelación del semen con la utilización del piruvato, las muestras fueron analizadas en cuanto a la motilidad total y progresiva y vigor espermático. Se comprobó que la adición de piruvato de sodio en la concentración de 1,5  $\mu$ M proporcionó una mejora en los parámetros de motilidad total y vigor espermático, demostrando los beneficios de su uso.

**PALABRAS CLAVE:** Análisis espermáticos. Congelación. Fertilidad. Piruvato de sodio.