

## AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ÓLEO DE COPAÍBA PARA CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN SUÍNO

PEDRO SICA CRUZEIRO<sup>1,2,3</sup>; YARA TAYANA ANDRIOLA<sup>2,3</sup>; GEÓGIA DA CRUZ TAVARES<sup>2,3</sup>; MARCIA DE OLIVEIRA NOBRE<sup>3,4</sup>; MARIANA TEXEIRA TILLMANN<sup>3,4</sup>; THOMAZ LUCIA JR.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Biotecnologia – UFPel – [cruzeiropedro@hotmail.com](mailto:cruzeiropedro@hotmail.com)

<sup>2</sup> ReproPel– Universidade Federal de Pelotas

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas - UFPel – [tluciajr@gmail.com](mailto:tluciajr@gmail.com)

<sup>4</sup> ClinPet – Universidade Federal de Pelotas

### 1. INTRODUÇÃO

O diluente usado para conservar o sêmen é de suma importância para garantir que as células espermáticas irão continuar viáveis durante o resfriamento, e possui diversas funções como aumentar o volume do ejaculado, controlar pH, inibir o desenvolvimento bacteriano, manter o balanço osmótico, fornecer nutrientes para produção de energia e proteger os espermatozoides contra o choque térmico (CORRÊA et al., 2001; JOHNSON et al., 2000). Segundo BORTOLOZZO; WENTZ (2002) a forma de manutenção do sêmen suíno mais empregada em inseminação artificial (IA) é a refrigeração.

Devido ao fato do sêmen suíno ser de difícil manutenção em resfriamento, cada vez mais busca-se possibilidades para sua criopreservação, dessa forma a utilização de extratos naturais pode ser uma alternativa devido suas propriedades organolépticas, como por exemplo antimicrobiano que é o caso do óleo de copaíba (CASCON; GILBERT, 2000).

O óleo-resina é extraído de árvores comuns a América Latina e África Ocidental, sendo encontrados no Brasil nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Amazônica, são do gênero *Capaifera*, da família *Fabaceae-Caesalpinioideae*. Tais plantas podem viver até 400 anos, atingindo a altura entre 25 e 40 metros, diâmetro entre 0,4 e 4 metros (FRANCISCO, 2005).

Apesar da existência de estudos da ação terapêutica do óleo-resina de copaíba, os estudos de toxicidade deste produto são escassos na literatura científica (SACHETTI et al., 2009).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade do óleo de copaíba associado ao diluente BTS para criopreservação de sêmen suíno.

### 2. METODOLOGIA

Foi realizada a coleta de sêmen em dois machos suínos adultos pelo método da mão enluvada. Após a coleta a fração rica do ejaculado foi diluída em meio BTS (*Beltsville Thawing Solution*), sendo acrescentado a ele 0,5µL, 10µL, 20µL, 40µL, 60µL de extrato de copaíba e conservado a 15°C.

As avaliações de motilidade e vigor foram realizadas nos tempos de 0h, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 24h e 48h. Para avaliação de motilidade uma amostra de 10µL foi aquecida a 37°C e avaliada em microscópio ótico de placa aquecida em aumento de 200 vezes que aferia o percentual de células viáveis. Foram determinados estes percentuais de 0 a 100% para motilidade. Para a análise de vigor foram realizadas avaliações de 0 a 5 em relação a movimentos progressivos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com os resultados obtidos conforme ilustrado na Tabela 1, observou-se que a maior concentração, 60 $\mu$ L, reduziu a motilidade na hora zero. Acredita-se que este fato tenha ocorrido devido à toxicidade apresentada pela copaíba.

Em contrapartida, nas avaliações a 60, 120, 180 e 240 minutos, não houve diferença estatística para os diversos tratamentos. Isto ocorre pelo fato de todas as concentrações do óleo de copaíba apresentarem um decréscimo. O tratamento número 6, por já vir ocasionando motilidade baixa, permaneceu manifestando pior resultado.

Os tratamentos número 5 e 6 diferem-se estatisticamente dos demais nas avaliações de 24 e 48 horas. Assim sendo, podemos ratificar que quando o tratamento é feito de forma prolongada pode induzir a redução da motilidade espermática.

Não é possível detectar as causas de redução apenas com base na avaliação de motilidade e vigor. Portanto, fazem-se necessárias outras análises, como integridade de DNA, mitocôndria, acrossoma, membrana plasmática e morfologia espermática.

Segundo MACIEL et al.(2006) o extrato de copaíba contém aproximadamente 72 hidrocarbonetos e 28 ácidos carboxílicos, e o óleo é composto de 50% de cada tipo de terpenos. Consequentemente, a copaíba reduz a qualidade acrossomal devido à ocorrência destes ácidos no óleo, afetando a composição lipídica da membrana do acrossoma, causando um aumento na fluidez da membrana (SWAPNA et al., 2006).

Tabela 1: Média ( $\pm$  Desvio Padrão) para Motilidade Espermática de Sêmen de Suínos com Utilização de BTS Associado ao Óleo de Copaíba em Diferentes Concentrações para Criopreservação.

Tratamento	0h	1h	2h	3h	4h	24h	48h
T1(Controle)	75 $\pm$ 7,1 <sup>A</sup>	65 $\pm$ 7,1 <sup>A</sup>	60 $\pm$ 14,1 <sup>A</sup>	60 $\pm$ 14,1 <sup>A</sup>	60 $\pm$ 14,1 <sup>A</sup>	55 $\pm$ 5,8 <sup>A</sup>	50 $\pm$ 0 <sup>A</sup>
T2 (0,5 $\mu$ L)	65 $\pm$ 7,1 <sup>A</sup>	55 $\pm$ 35,4 <sup>A</sup>	55 $\pm$ 21,2 <sup>A</sup>	50 $\pm$ 28,3 <sup>A</sup>	45 $\pm$ 21,2 <sup>A</sup>	35 $\pm$ 5,8 <sup>AB</sup>	35 $\pm$ 5,8 <sup>AB</sup>
T3 (10 $\mu$ L)	65 $\pm$ 7,1 <sup>A</sup>	50 $\pm$ 14,1 <sup>A</sup>	45 $\pm$ 21,2 <sup>A</sup>	40 $\pm$ 28,3 <sup>A</sup>	40 $\pm$ 28,3 <sup>A</sup>	30 $\pm$ 11,5 <sup>AB</sup>	30 $\pm$ 11,5 <sup>AB</sup>
T4 (20 $\mu$ L)	65 $\pm$ 7,1 <sup>A</sup>	50 $\pm$ 0 <sup>A</sup>	45 $\pm$ 7,1 <sup>A</sup>	35 $\pm$ 21,2 <sup>A</sup>	35 $\pm$ 21,2 <sup>A</sup>	35 $\pm$ 5,8 <sup>AB</sup>	25 $\pm$ 17,3 <sup>AB</sup>
T5 (40 $\mu$ L)	60 $\pm$ 0 <sup>AB</sup>	35 $\pm$ 21,2 <sup>A</sup>	40 $\pm$ 14,1 <sup>A</sup>	40 $\pm$ 28,3 <sup>A</sup>	30 $\pm$ 28,3 <sup>A</sup>	25 $\pm$ 17,3 <sup>B</sup>	25 $\pm$ 17,3 <sup>B</sup>
T6 (60 $\mu$ L)	30 $\pm$ 14,1 <sup>B</sup>	30 $\pm$ 28,3 <sup>A</sup>	20 $\pm$ 28,3 <sup>A</sup>	25 $\pm$ 35,4 <sup>A</sup>	20 $\pm$ 28,3 <sup>A</sup>	15 $\pm$ 17,3 <sup>B</sup>	15 $\pm$ 17,3 <sup>B</sup>

<sup>AB</sup> Letras distintas nas colunas indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey (P<0,05)

Estes resultados sugerem que mais estudos sejam realizados com o óleo de copaíba, a fim de avaliar com maior profundidade sua ação e toxicidade perante as células espermáticas, e ainda, sua atividade como um possível criopreservador.

### 4. CONCLUSÕES

Conclui-se que em altas concentrações o óleo de copaíba associado ao diluente BTS pode influenciar de forma negativa a motilidade e vigor espermático, porém se utilizado em baixas concentrações pode trazer efeitos positivos às análises a curto prazo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I. Avanços na Inseminação artificial em suínos. In: **CONGRESSO NORDESTINO DE SUINOCULTURA**, 1., Fortaleza, 2002 **Anais...** Fortaleza, 2002, p.56-62.

CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry**. Rio de Janeiro, 2000, v.50, p.773-778.

CASTAGNA, C. D.; BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I. Estratégias de inseminação artificial na suinocultura moderna. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS**, 10. Porto Alegre, 2001, **Anais...** Porto Alegre: ABRAVES, 2001, v.1, p.143-150.

CAVALCANTI, B.C.; LOTUFO, L.V.C.; MORAES, M.O.; BURBANO, R.R.; SILVEIRA, E.R.; CUNHA, K.M.; RAO, V.S.; MOURA, D.J.; ROSA, R.M.; HENRIQUES, J.A.; PESSOA C. Genotoxicity evaluation of kaurenoic acid, a bioactive diterpenoid present in Copaiba oil. **Food and chemical toxicology**, Fortaleza, v.44, n.3, p.388-392, 2006.

CORRÊA M. N.; MEINCKE W.; LUCIA JR. T.; DESCHAMPS J. C. Inseminação artificial em suínos. **Pelotas: Printpar Gráfica e Editora**, p.181, 2001.

FRANCISCO, S.G. Uso do óleo de resina de Copaíba (*Copaifera officinalis* L) em inflamação ginecológica. **Revista Femina**, Rio de Janeiro, v.33, n.3, p.89-93, 2005.

JOHNSON, L. A.; WEITZE, K. F.; FISER, P.; MAXWELL W. M. C. Storage of boar semen. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.62, n.1/3, p.143-172. 2000.

MACIEL, M.A.M; PINTO. A.C.; JR. V.; F.V. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v.25, n.3, p.429-438, 2002

SWAPNA, I.; KUMAR, K.V.S.S.; MURTHY, C.R.K.; SENTHILKUMARAN, B., Membrane alterations and fluidity changes in cerebral cortex during acute ammonia intoxication. **NeuroToxicology**, Hyderabad, v.27, n.3, p.402-408, 2006