

Caracterização de proteínas do plasma seminal de caprinos da raça Moxotó no semiárido Nordestino

**Roberta Vianna do Valle¹, Ângela Maria Xavier Eloy², Nadiana Maria Mendes da Silva³, João
Ricardo Furtado⁴, José Nóbrega de Medeiros⁴**

¹Aluna do programa de pós-graduação em Zootecnia da UVA/Embrapa. Bolsista FUNCAP. e-mail: betadovalle@yahoo.com.br

²Pesquisadora Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE

³Bolsista de DTI CNPq

⁴Assistente de laboratório da Embrapa Caprinos e Ovinos

Resumo: O presente estudo foi realizado na Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, com o objetivo de caracterizar as bandas protéicas presentes no plasma seminal de caprinos da raça Moxotó através da técnica de eletroforese unidimensional (1D). Foram utilizados nove reprodutores, adultos e sadios, mantidos em regime intensivo de produção. Os ejaculados foram coletados, semanalmente, em abril/2010, para obtenção do plasma seminal, análise de proteína total e eletroforese 1D, sendo avaliados no momento da coleta, o volume, a concentração espermática, a motilidade progressiva retilínea e o vigor. Detectou-se 12 bandas protéicas, com peso molecular entre 124,4 e 6,6 kDa. Observou-se que o número de bandas diferiu entre os animais (8 – 12 bandas), sendo que apenas 33,33% dos ejaculados apresentaram todas as bandas. Também se verificou a presença das bandas de 6, 22, 24 e 66 kDa em 100% dos animais e, em 90% observou-se bandas moleculares de 15 e 55 kDa. Com esse estudo, o primeiro sobre proteínas seminais da raça Moxotó, foi possível fazer uma caracterização preliminar da distribuição e frequência das bandas protéicas na raça.

Palavras-chave: eletroforese unidimensional, massa molecular, proteômica

Instructions for elaborating abstract of Annual Meeting of Animal Science Brazilian Association

Abstract: This study was conducted at Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral - CE, with the purpose to characterize the proteic bands present in seminal plasma of Moxotó goats through the technique of one-dimensional electrophoresis (1D). There were used nine animals, healthy and adults which were kept in intensive production. The ejaculates were collected weekly in April/2010 in order to obtain seminal plasma, total protein analysis and 1D electrophoresis, and it was evaluated at the time of collection, the volume, sperm concentration, progressive motility and vigor. It was detected 12 proteic bands, with molecular weights between 124,4 and 6.6 kDa. It was observed that the number of bands differed among the animals (8 - 12 bands), and only 33,33% of ejaculates had all the bands. It was also noted the presence of bands the 6, 22, 24 and 66 kDa in 100% of the animals, and in 90% was observed molecular bands of 15 and 55 kDa. With this study, the first on seminal proteins Moxotó was possible to make a preliminary characterization of the distribution and frequency of proteic bands in this race.

Keywords: molecular weight, one-dimensional electrophoresis, proteomics

Introdução

Na atualidade, os reprodutores caprinos disponíveis para reprodução, são selecionados com base em critérios para busca de indicadores confiáveis, através da biometria testicular, avaliações espermáticas, motilidade e morfologia, aliado à análise computadorizada do sêmen e testes avançados da função espermática (Gadea, 2005). No entanto, existe limitação desses testes predizerem a fertilidade de um determinado animal. Estudos demonstram que as proteínas do plasma seminal possuem um papel fundamental nas funções espermáticas *in vivo*, desde a ejaculação até a fertilização, estando envolvidas na capacitação espermática e na reação acrossômica (Manjunath & Therien, 2002). O objetivo deste

trabalho, através da utilização da eletroforese 1D, foi caracterizar o perfil das bandas protéicas presentes no plasma seminal de caprinos da raça Moxotó criados no semiárido do Nordeste.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Embrapa Caprinos e Ovinos, em Sobral, Ceará, no semiárido do nordeste, situado à 3°42' de latitude Sul e 40°21' de longitude Oeste, e uma altitude de 83 metros. A temperatura média anual é de 28°C, com médias, mínimas e máximas, de 22°C e 35°C, respectivamente, e umidade média do ar de 69%. Foram utilizados nove reprodutores caprinos da raça Moxotó, adultos e, clinicamente sadios, com peso variando entre 34 e 39 kg, submetidos a um sistema intensivo de criação, recebendo suplementação alimentar.

O sêmen foi coletado de cada reprodutor, semanalmente, durante o mês de abril/2010, através da vagina artificial. As amostras foram avaliadas logo após a coleta, quanto ao volume (mL), aspecto, concentração ($\times 10^9$ spz/mL), motilidade progressiva retilínea (%) e vigor (1-5). Em seguida, o sêmen foi centrifugado a 1.500 g, à 4°C por 30 minutos para a separação do plasma seminal, e recentrifugado a 10.000 g, à 4°C por 60 minutos visando retirar os fragmentos celulares. As análises de proteínas totais do plasma seminal foram realizadas através do método descrito por Bradford (1976). A eletroforese 1D SDS-PAGE a 12,5% foi corrida a um ampère, 300 volts por aproximadamente duas horas, sendo as bandas protéicas analisadas através do programa Biodoc-it and Visidoc-it, Gel Documentation System da UVP.

Resultados e Discussão

Foram detectadas 12 bandas protéicas no plasma seminal de caprinos Moxotó, com peso molecular entre 124,4 e 6,6 kDa. Observou-se que o número de bandas diferiu entre os animais (8 – 12 bandas), sendo que apenas 33,33% dos ejaculados continha todas as bandas. Também verificou a presença das bandas de 6, 22, 24 e 66 kDa em 100% dos animais e, em 90% encontrou-se 15 e 55 kDa.

De acordo com estudos de Fleisch & Gadella (2000), as proteínas do plasma seminal que possuem baixa massa molecular (5 a 10 kDa) são denominadas caltrinas, e permitem o aumento da concentração de Ca^{2+} nos espermatozoides, evitando a capacitação espermática precoce provocada pelo processo de criopreservação. Bandas moleculares de 6 kDa foram encontradas em 100% dos animais neste estudo, provavelmente poderá ser um indicativo para congelamento de sêmen.

Em amostras de sêmen *in natura*, Villemure et al. (2003) observaram quatro bandas protéicas, GSP-14 kDa, GSP-15 kDa, GSP-20 kDa e GSP-22 kDa, em plasma seminal de caprinos e estas foram denominadas *Goat Seminal Proteins*. Nesse estudo, foi verificado a presença das bandas de 14 kDa (67%), 15 kDa (90%) e a de 22 kDa (100%) nos caprinos Moxotó.

Observou-se uma banda de 55 kDa (100%) e de 66 kDa (90%), que podem ser a osteopontina e a albumina, respectivamente. Estudos realizados por Oberst et al. (2002) identificaram essas bandas protéicas em 100% das amostras de plasma seminal de taurinos e zebuínos. E segundo os mesmos pesquisadores, a osteopontina pode ser encontrada na forma solúvel, ou associada à membrana celular, e parece estar envolvida em diversas atividades, incluindo adesão celular, remodelamento de membranas, alterações no cito-esqueleto e modulação imunológicas (Oberst et al., 2002). As bandas que apresentaram menor frequência nos animais foram as de 20, 30 e 45 kDa, necessitando, no entanto, de estudos mais aprofundados.

Em relação, aos parâmetros espermáticos, o volume do sêmen variou de 0,2 a 1,2 mL; a concentração de $1,6$ a $4,1 \times 10^9$ spz/mL; a motilidade de 70 a 90% e o vigor de 3 a 5.

Conclusões

Esse estudo foi o primeiro a caracterizar o perfil eletroforético do plasma seminal de caprinos da raça Moxotó. Pesquisas mais aprofundada devem ser realizados visando identificar e conhecer as proteínas seminais e suas funções.



**48ª Reunião Anual da Sociedade
Brasileira de Zootecnia**



*O Desenvolvimento da Produção Animal e a
Responsabilidade Frente a Novos Desafios*

Belém - PA, 18 a 21 de Julho de 2011

Literatura citada

- BRADFORD, M. M. A rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- FLEISCH, F.M.; CADELLA, B.M. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in process of fertilization. **Biochimica et Acta**, v. 1469, p. 197- 235, 2000.
- GADEA, J. Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. **Theriogenology**, Amsterdam, v.63, p. 431-444, 2005.
- OBERST, E.R.; JOBIM, M.I.M.; CIMAROSTI, H.I.; SOUZA, D.O.; SALBEGO, C.G.; WALD, V.B.; MATTOS, R.C. Imunoidentificação de albumina e osteopontina no plasma seminal de reprodutores taurinos e zebuínos. **Semina: Ciência Agrária**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 21-28, jan/jun, 2002.
- MANJUNATH, P.; THÉRIEN, I. Role of seminal plasma phospholipidbinding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. **J. Reprod. Immunol.**, v. 53, p. 109-119, 2002.
- VILLEMURE, M.; LAZURE, C.; MANJUNATH, P. Isolation and characterization of gelatin-binding proteins from goat seminal plasma. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 1, p.39, 2003.