

PERFIL PROTÉICO DO PLASMA SEMINAL DE OVINOS DA RAÇA MORADA NOVA DURANTE O PERÍODO SECO NO NORDESTE BRASILEIRO¹

Área temática: INOVAÇÕES CIENTÍFICAS E TECNOLÓGICAS

Nadiana Maria Mendes Silva², Ângela Maria Xavier Eloy³, João Ricardo Furtado⁴,
Andréa Zilá Barroso de Sousa⁵, Nágila Mendes Silva⁶

¹Parte da Dissertação do primeiro autor, financiada pela EMBRAPA Caprinos e Ovinos

²Aluna do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UVA/EMBRAPA Caprinos e Ovinos, Sobral-CE. e-mail: nadiana.mendes@gmail.com

³Pesquisadora Embrapa Caprinos e Ovinos. angela@cnpq.embrapa.br

⁴Assistente de Pesquisa Embrapa Caprinos e Ovinos. ricardo@cnpq.embrapa.br

⁵Aluna do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFERSA, Mossoró-RN. E-mail: andreazila@hotmail.com

⁶Aluna de Graduação do Curso de Biologia da UVA, Sobral-Ce. E-mail: nagingha_mendes@hotmail.com

Resumo: Este trabalho estudou o perfil eletroforético das proteínas seminais no período de altas temperaturas, baixa umidade do ar e escassez de alimento na região Nordeste. Utilizou-se quatro ovinos da raça Morada Nova, em idade reprodutiva, dos quais se coletou sêmen nos meses de outubro, novembro e dezembro/2008. Não houve diferença ($P>0,05$) quanto ao volume do ejaculado, concentração e motilidade dos espermatozóides entre os meses, enquanto que a proteína total diferiu ($P<0,05$) no mês de dezembro em relação aos demais meses. Os géis de eletroforese 1D mostraram 20, 19 e 18 bandas protéicas nos meses de outubro, novembro e dezembro, respectivamente. Foram encontradas 17 bandas similares neste período, dentre elas as de 15kDa; 28-30kDa; 37,5kDa; 55kDa, 66kDa e 135kDa. Mesmo havendo variação no número e na frequência de distribuição das bandas protéicas, não houve comprometimento da qualidade do sêmen.

Palavras-chave: Ovino, Plasma Seminal, Eletroforese 1D

PLASMA SEMINAL PROTEIN PROFILE OF MORADA NOVA RAMS DURING THE DRY PERIOD IN THE BRAZILIAN NORTHEASTER

Abstract: This work studied the seminal proteins electrophoretic profile in the period with high temperature, low humidity and food scarcity in the Northeast area. It was used four Morada Nova rams in a reproductive phase from which the semen was collected during the months of October, November and December/2008. It was not observed statistical difference ($P>0.05$) concerning to ejaculate volume, spermatozoid motility and concentration between the months, while the total protein showed difference ($P<0.05$) on December in relation to others months. The 1D gel analyze showed 20, 19 and 18 protein bands in October, November and December, respectively. It were found 17 protein bands distributed in all the months, among them the ones of 15kDa; 28-30kDa; 37,5kDa; 55kDa, 66kDa and 135kDa. Even happening variation on protein bands number and distribution frequency in this period, it was not observed alteration on semen quality.

Key-word: Sheep; Seminal plasma; Electrophoreses 1D.

Introdução

O estudo das proteínas seminais vem se sobressaindo como ferramenta na avaliação de animais para reprodução, uma vez que as proteínas oriundas das glândulas acessórias desempenham importante papel no processo de fertilização. Estudos da proteômica em várias espécies, dentre elas a bovina, equina e suína estão avançadas, e, em especial na espécie humana, na qual marcadores de fertilidade e de algumas doenças já foram identificados. A raça Morada Nova é uma das principais raças nativas de ovinos deslançados do Nordeste, adaptada às condições climáticas do semi-árido, sendo um componente produtivo importante nas pequenas propriedades, representando uma das principais fontes de proteína de origem animal para as populações rurais (Fernandes et al., 2001). Esta raça, embora apresente particularidades importantes do ponto de vista reprodutivo e produtivo nas condições onde habita, não está despertando interesse dos criadores, devido à cultura existente por animais de maior porte, levando à retração do rebanho da região. Em vista disso, pesquisadores e instituições de fomento estão procurando investir em pesquisas de caracterização da raça através de estudos da genômica e da proteômica, visando identificar marcadores de interesse econômico para a produção. Este trabalho preliminar tem como objetivo a identificação do perfil protéico do plasma

seminal de ovinos da raça Morada Nova durante o período mais seco (outubro a dezembro/2008) através de eletroforese unidimensional.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Caprinos e Ovinos, em Sobral, Ceará, na região Nordeste, em pleno semi-árido, 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, mínima e máxima, de 22°C e 35°C, respectivamente, e umidade relativa do ar de 69% (FUNCEME, 2006). Foram utilizados quatro machos da raça Morada Nova, sexualmente maduros, com idade variando de 18 a 21 meses, submetidos a regime de criação semi-intensivo, recebendo alimentação segundo os requerimentos do NRC (1985). O sêmen foi colhido, semanalmente, através de vagina artificial, no período de outubro a dezembro/2008. Inicialmente foram avaliados as seguintes variáveis: volume do ejaculado (mL), motilidade (%) e concentração ($\times 10^6 \text{ mm}^3$) do sêmen. Para obtenção do plasma, as amostras foram centrifugadas duas vezes, sendo a primeira à 1.500g por 30 minutos, e a segunda à 10.000g por 60 minutos para retirada de restante dos fragmentos de células. Foram realizadas as análises de proteínas totais (Bradford, 1976) e eletroforese unidimensional SDS PAGE 12% de um *pool* (200 μg de proteína total do plasma seminal de cada animal em cada mês), de amostras dos animais nos respectivos meses em estudo. A análise dos géis foi realizada usando-se o software Doc-IT-LS[®] 6.0 da UVP. Para comparação das médias do volume do ejaculado, motilidade e concentração espermática e proteínas totais, entre os meses, foi realizada análise de variância e o teste F à 5%, usando-se o software Excel.

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que não houve diferença estatística ($P > 0,05$) quanto ao volume do ejaculado, motilidade e concentração espermática dos animais entre os meses estudados. Os valores médios das proteínas totais nos meses de outubro, novembro e dezembro foram $10,27 \pm 3,63 \mu\text{g}/\mu\text{l}$; $11,41 \pm 2,39 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ e $15,56 \pm 3,19 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, respectivamente, mostrando diferença estatística ($P < 0,05$) no mês de dezembro em relação aos demais.

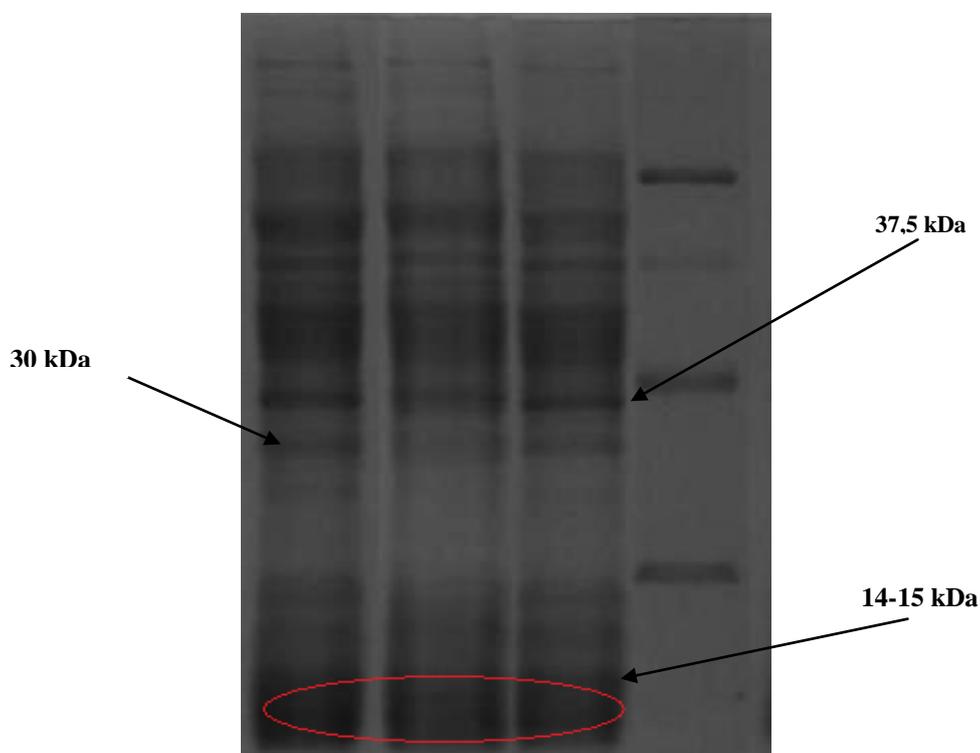


Fig. 1 Gel de eletroforese unidimensional dos meses de outubro, novembro e

Nas análises dos géis de eletroforese observou-se um total de 20, 19 e 18 bandas protéicas (Figura 1) nos meses de outubro, novembro e dezembro, respectivamente. Foram encontradas neste estudo bandas de baixo peso molecular (<30kDa), dentre elas as de 14-15 kDa, sendo provavelmente as espermadhesinas, que segundo Tadesthi et al., (2000) está associada à superfície da membrana do espermatozóide de vários animais domésticos. Já Jobim et. al., (2003) associaram essas proteínas à manutenção da motilidade espermática em caprinos e a sua ligação à membrana espermática durante o trânsito epididimário, atuando na capacitação espermática desses animais (Villemure et. al., 2003). Também observou-se a presença de bandas de alto peso molecular como de 122 e 125 kDa, encontradas em outubro e novembro, respectivamente. Foram observadas 17 bandas semelhantes nos três meses, entre as quais as de 28 a 30kDa e 37,5kDa que, segundo Manjunath (1984) e Shivaji et al. (1990), respectivamente, atuam na indução da motilidade progressiva em bovinos.

Souza et. al. (2008), encontraram em caprinos um grupo de proteínas com 14-15kDa juntamente com outro grupo de proteínas com massas moleculares de 38-39kDa e pl de 5,21-5,42, onde foram observados valores de motilidade progressiva iguais a 81,3 e 79,8%, respectivamente, confirmando as afirmações de Villemure et al. (2003). Neste estudo encontraram-se valores de motilidade progressiva de 87.5, 86.9 e 80% para os meses de outubro, novembro e dezembro respectivamente.

Conclusões

Mesmo havendo variação no número e na frequência de distribuição das bandas protéicas, não houve comprometimento da qualidade do sêmen neste período; Este trabalho mostra os primeiros dados sobre o perfil protéico do plasma seminal da raça Morada Nova.

Referência Bibliográfica

BRADFORD, M. M. A rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Anal. Biochem.**, 72, 248-254, 1976.

FERNANDES, A. A. O. et al., Avaliação dos fatores ambientais no desenvolvimento corporal de cordeiros desmamados da raça Morada Nova. **Rev. Bras. Zootec.**, 30, 1460-1465, 2001.

FUNDAÇÃO CEARENSE DE METEOROLOGIA E RECURSOS HIDRICOS, (FUNCEME) – 2008- Fortaleza – Dados de pluviosidade, temperatura e umidade. Disponível em <http://www.funceme.br/DEPAM/index.htm>. Acesso em 03/01/2008

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of sheep. 6^o ed. Washington: DC. NAS, 1985, 99p.

JOBIM, M.I.M. et al., Proteínas de baixo peso molecular do plasma seminal bovino relacionadas com a congelabilidade do sêmen através de eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida. **Act. Sci. Vet.**, 1:21-30, 2003.

MANJUNATH, P. Gonadotropin release stimulatory and inhibitory proteins in Bull seminal plasma. In: SAIRAM, M.R.; ATKINSON, L.E. (Eds.) Gonadal proteins and peptides and their biological significance. Singapore: **World Scientific**, 1984. p.49-61.

SHIVAJI, S. et al. Proteins of seminal plasma. New York: **John Wiley and Sons**, 1990. 526p.

SOUZA, A.F. et al., 2009. Proteínas do plasma seminal de caprinos relacionadas com o índice pluviométrico e a qualidade do sêmen. **Ciência. Rural.**, 39, 1155-1161, 2009.

TEDESTHI G., OURGE E, MORTARINO M., NEGRI A. & RONCHI S. Purification and primary structure of a espermadhesin. **European Journal of Biochemistry**, 20, 6175-6179, 2000.

VILLEMURE, M. et al. Isolation and characterization of gelatine-binding proteins from goat seminal plasma. **Reprod. Biol. Endocr.**, 1, 39, 2003.