

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CÂMPUS OESTE
SEDE: SÃO LUÍS DE MONTES BELOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL E FORRAGICULTURA
MESTRADO PROFISSIONAL

WEVERTON RODRIGUES ANDRADE

**ÓLEO ESSENCIAL DE JATOBÁ COMO AGENTE ANTIOXIDANTE NA
CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN BOVINO**

SÃO LUÍS DE MONTES BELOS-GO
2025

WEVERTON RODRIGUES ANDRADE

**ÓLEO ESSENCIAL DE JATOBÁ COMO AGENTE ANTIOXIDANTE NA
CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN BOVINO.**

Dissertação apresentada como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Animal e Forragicultura, pela Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Oeste - Sede São Luís de Montes Belos, sob orientação do professor Dr. Klayto Jose Gonçalves dos Santos .

SÃO LUÍS DE MONTES BELOS-GO

2025

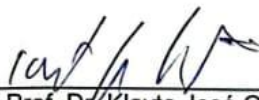
WEVERTON RODRIGUES ANDRADE

**ÓLEO ESSENCIAL DE JATOBÁ COMO AGENTE ANTIOXIDANTE NA
CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN BOVINO**

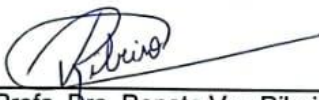
Aprovada em 05 de setembro de 2025, pela Banca Examinadora constituídas
pelos professores:

Dissertação apresentada como exigência
parcial para obtenção do título de Mestre
em Produção Animal e Forragicultura, pela
Universidade Estadual de Goiás, Câmpus
Oeste - Sede São Luís de Montes Belos,
sob orientação do professor Dr. Klayto José
Gonçalves dos Santos.

Banca Examinadora



Prof. Dr. Klayto José Gonçalves dos Santos – UEG
Orientador



Profa. Dra. Renata Vaz Ribeiro – UEG
Membro



Profa. Dra. Sâmara Cristine Costa Pinto – FAPEG
Membro

SÃO LUÍS DE MONTES BELOS - GO

2025

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RA554 Rodrigues Andrade, WEVERTON
oÃ ÓLEO ESSENCIAL DE JATOBÁ COMO AGENTE ANTIOXIDANTE NA
CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN BOVINO / WEVERTON Rodrigues
Andrade; orientador Klayto José Gonçalves dos Santos .
-- São Luis de Montes Belos , 2025.
45 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
Mestrado Profissional em Produção Animal e
Forragicultura) -- Câmpus Oeste - Sede: São Luís de
Montes Belos, Universidade Estadual de Goiás, 2025.

1. Oleo essencial . 2. Reprodução . 3.
Espermatozoide . 4. Jatoba . I. José Gonçalves dos
Santos , Klayto , orient. II. Título.

Dedico este trabalho ao meu pai, que tanto me ajudou e que tanta falta faz neste momento, que Deus o tenha.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me orientar durante esta jornada e por me dar forças todos os dias. A minha mãe Jorcení da Silva Andrade Rodrigues, meu tio Rone Rosa Martins, minha avó Ionis Rosa Rodrigues, agradeço o apoio, incentivo e ajuda em todos os âmbitos que foram necessários em todo o percurso até aqui. Ao meu orientador Prof. Dr. Klayto José que sempre me auxiliou da melhor forma possível, nos momentos de necessidade e dúvida.

Agradeço também a Prof. Dra. Joelma Paula e seus alunos do mestrado de farmácia da UEG campus Anápolis, pelo apoio e por nos ajudar a produzir o óleo essencial utilizado no trabalho. Agradeço também a Prof. Dra. Sâmara por nos auxiliar com seu conhecimento e planejamento para que o trabalho ocorresse da melhor forma possível, também aos colaboradores e estagiários do BIOTEC, em especial a Ana Carla Costa, por estarem sempre presentes permitindo que as atividades ocorressem sem mais problemas.

Agradeço especialmente ao meu pai Alcir Rosa Rodrigues Paixão que na fase final dessa trajetória nos deixou, e que muito contribuiu física e mentalmente com conselhos e ajuda para que eu conseguisse chegar aqui.

Agradeço aos meus colegas de classe e a todas as pessoas que contribuíram para o meu crescimento tanto pessoal quanto profissional.

Enfim, agradeço a todos.

RESUMO

O Brasil se destaca na pecuária, e biotecnologias reprodutivas como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) são amplamente adotadas, visando melhorar a eficiência reprodutiva. A criopreservação de sêmen bovino, como uma dessas biotecnologias é essencial para disseminar genética de qualidade, porém enfrenta desafios, incluindo a perda de viabilidade espermática devido à ação das ROS. A integração de antioxidantes de plantas nativas, como o jatobá, pode ser uma solução promissora. Para o experimento foi utilizado o óleo essencial de jatobá adicionado a uma mistura de sêmen + diluidor, foram definidos quatro grupos com dosagens diferentes entre si, e utilizados foram utilizados em quatros reprodutores diferentes. Por fim o trabalho tinha como objetivo avaliar se este óleo essencial conseguiria atuar como agente antioxidante nessa condições propostas para o experimento.

Palavras-chave: espécies reativas de oxigênio; plantas nativas; reprodução.

ABSTRACT

Brazil excels in livestock farming, and reproductive biotechnologies such as fixed-time artificial insemination (FTAI) are widely adopted to improve reproductive efficiency. Bovine semen cryopreservation, one of these biotechnologies, is essential for disseminating quality genetics, but faces challenges, including loss of sperm viability due to the action of ROS. The integration of antioxidants from native plants, such as jatobá, may be a promising solution. For the experiment, jatobá essential oil was added to a mixture of semen and extender. Four groups with different dosages were defined and used in four different breeders. Finally, the study aimed to evaluate whether this essential oil could act as an antioxidant under the conditions proposed for the experiment.

Keywords: reactive oxygen species; native plants; reproduction.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μ	Microlitros
°C	Graus Celsius
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
UEG	Universidade Estadual de Goiás
CASA	Análise Computadorizada de sêmen
BIOTEC	Centro de biotecnologia em reprodução animal
FIV	Fertilização in vitro
IA	Inseminação artificial
TE	Transferência de embriões
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
BHT	Butil-hidroxitolueno
G	Gramas
%	Porcentagem
ML	mililitro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Composição dos constituintes químicos do óleo de jatobá, adaptada de Sales (2014).	41
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Constituintes químicos identificados no óleo essencial dos frutos do Jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L).....	36-37
Tabela 2 - Coletas touro 4.....	37-38
Tabela 13 - dados da validação touro 4 29/11/2024	38-39
Tabela 14 - dados da refrigeração touro 4 13/12/2024	39-40

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES INICIAIS	13
1.1 - INTRODUÇÃO	13
1.1.2 - CRIOPRESERVAÇÃO.....	15
1.1.3– ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO	16
1.1.4– ANTIOXIDANTES	17
1.1.5 - JATOBÁ	20
1.1.6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	13
1.1.7 REFERÊNCIAS.....	22
CAPÍTULO 2 TESTES DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL.	
2.1 INTRODUÇÃO	29
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	30
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
2.4 CONCLUSÃO	42
CAPÍTULO 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
CAPÍTULO 4 REFERÊNCIAS	43

CAPÍTULO 1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1.1 INTRODUÇÃO

A importância da reprodução animal vai além da simples perpetuação das espécies, pois está diretamente ligada à eficiência produtiva dos sistemas de criação. Através da reprodução, é possível obter animais mais produtivos, resistentes e com características genéticas desejáveis para cada segmento produtivo. Dessa forma, a reprodução animal desempenha papel estratégico na cadeia produtiva da carne e do leite (BARUSELLI et al., 2017).

A integração entre genética, nutrição, manejo e sanidade é indispensável para o êxito das biotecnologias reprodutivas. Um programa reprodutivo eficiente deve considerar o estado nutricional dos animais, a sanidade reprodutiva e o ambiente em que estão inseridos (LUZ; CELEGHINI; BRANDÃO, 2024).

As biotecnologias reprodutivas têm grande impacto na forma como os criadores manejam seus rebanhos. Técnicas como a inseminação artificial (IA), a fertilização *in vitro* (FIV) e a transferência de embriões (TE) são ferramentas que visam acelerar o progresso genético, permitir o uso de reprodutores superiores em larga escala e reduzir os custos com reprodução. Essas tecnologias também possibilitam o intercâmbio genético entre países e a conservação de raças (BARUSELLI et al., 2019).

A inseminação artificial é uma das técnicas mais difundidas na bovinocultura, permitindo a deposição do sêmen no trato reprodutivo da fêmea sem a necessidade de monta natural. Essa prática possibilita o uso de touros geneticamente superiores em diferentes locais e épocas, maximizando o aproveitamento genético (CONSENTINI; MOTTA; PRATA, 2020).

A fertilização *in vitro* é uma biotecnologia avançada que consiste na coleta de oócitos de fêmeas bovinas e sua fertilização com espermatozoides em laboratório. Após o desenvolvimento embrionário inicial, os embriões são transferidos para receptoras. Essa técnica permite a multiplicação rápida de animais de alto valor

genético, especialmente em fêmeas jovens. A FIV também oferece a possibilidade de preservar material genético (BERTOL, 2016).

A transferência de embriões, por sua vez, consiste na coleta de embriões de uma fêmea doadora e sua posterior transferência para fêmeas receptoras. Essa técnica permite o aumento de animais geneticamente superiores e reduz o intervalo entre gerações. Quando associada a um bom planejamento técnico, a TE se torna uma estratégia eficiente para acelerar o melhoramento genético de rebanhos (BARUSELLI et al., 2006).

Outra biotecnologia utilizada é a sexagem do sêmen, que possibilita a escolha prévia do sexo da progênie. Essa técnica é especialmente vantajosa para sistemas leiteiros, onde fêmeas têm maior valor econômico. O sêmen sexado é utilizado na inseminação artificial, aumentando a proporção de nascimentos do sexo desejado. Apesar de seu custo mais elevado, os benefícios gerados justificam sua adoção em programas reprodutivos (HOSSEPIAN DE LIMA, 2007).

O uso de protocolos hormonais é uma estratégia complementar às biotecnologias, permitindo o controle do ciclo estral e a sincronização da ovulação em fêmeas bovinas. Esses protocolos são fundamentais para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), reduzindo a necessidade de detecção de cio e aumentando as taxas de prenhez (ALMEIDA et al., 2020).

A adoção das biotecnologias reprodutivas deve considerar aspectos econômicos, técnicos e sanitários. Embora ofereçam grandes benefícios, essas técnicas exigem investimento financeiro, estrutura adequada e mão de obra especializada. Além disso, é necessário respeitar o bem-estar animal e seguir as legislações sanitárias vigentes (CARVALHO; CHILITTI; IMBELLONI, 2011).

Atualmente, a sustentabilidade dos sistemas de produção bovina passa, necessariamente, pelo uso racional das biotecnologias reprodutivas. Ao promover a eficiência produtiva e reduzir o impacto ambiental, essas ferramentas contribuem para a produção de alimentos de forma responsável. O uso de tecnologias reprodutivas tem grande impacto na taxa de descarte de matrizes, o que afeta a produtividade e sustentabilidade de uma propriedade (COLOMBO et al., 2023).

A capacitação técnica dos profissionais envolvidos na reprodução animal é um fator determinante para o sucesso das biotecnologias. Médicos veterinários,

zootecnistas e colaboradores devem estar atualizados quanto aos protocolos mais eficientes e às boas práticas de manejo reprodutivo. A formação continuada e a troca de experiências entre profissionais contribuem para a consolidação dessas técnicas (RUSSI; SILVA; NETO, 2009).

1.1.2 CRIOPRESERVAÇÃO

A criopreservação de sêmen bovino é uma técnica fundamental dos programas de reprodução animal, pois ela garante uma ampla distribuição do sêmen de reprodutores qualificados, tornando assim melhor a distribuição de uma genética de ponta. Ela é uma técnica baseada no congelamento e armazenamento do sêmen bovino em nitrogênio líquido a -196°C , o que possibilita preservar as células espermáticas por tempo indeterminado, mantendo sua viabilidade (RIBAS-MAYNOU et al., 2024).

Os métodos de se criopreservar o sêmen bovino podem ser divididos quanto ao sistema automatizado, com a curva controlada eletronicamente, e convencional, com a curva controlada manualmente. Ambos esses métodos se relacionam com o sêmen através dos passos da diluição, congelação, armazenamento e descongelação (ABUD et al., 2014).

Fatores não fisiológicos também são importantes pois vão impactar a qualidade do sêmen descongelado, eles envolvem os agentes crioprotetores e diluidores, e o aquecimento deste sêmen (LEITE et al., 2011).

Outro fator que devemos levar em conta é que certos indivíduos apresentam melhores resultados durante a criopreservação, tornando assim os touros um fator a ser considerado. Com isso em mente é importante observar além da genética a resposta das células seminais do indivíduo ao processo de criopreservação, atualmente existem trabalhos que tentam encontrar através da genética, uma característica de herdabilidade nos reprodutores que possam passar essa qualidade para seus filhos (WANG et al., 2024).

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode ser aumentada por fatores como variações bruscas na temperatura, manipulação inadequada do material e uso de diluentes sem proteção antioxidante adequada. Dessa forma, a inclusão de antioxidantes associados aos diluidores durante o processo de

criopreservação, pode aumentar a qualidade do sêmen pós congelado. Essa abordagem tem mostrado resultados promissores na preservação da integridade funcional dos espermatozoides bovinos (ALYETHODI et al., 2021).

1.1.3 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

A geração das espécies reativas de oxigênio (EROs) é um processo fisiológico que ocorre durante o metabolismo celular normal. No entanto, quando a produção dessas espécies excede uma determinada quantidade, ocorre o chamado estresse oxidativo, que geralmente compromete seriamente a funcionalidade das células. Na criopreservação, o impacto das EROs pode afetar parâmetros importantes como a motilidade e fatores ligados a morfologia espermática, prejudicando diretamente o potencial fértil do sêmen quando descongelado (MAZZILINI et al., 1995).

A ação e produção exagerada das EROs, associado com a falta do sistema antioxidante materno de defesa, tem causado percas e problemas durante a produção *in vitro* de embriões. Vários são os problemas causados pelo estresse oxidativo durante a atividade, como a perda da qualidade occitaria, para tentar mitigar isso uma solução seria a utilização de agentes antioxidante, como os tióis, adicionados aos meios de cultivo (CROCOMO et al., 2023).

Sabemos que durante o processo de criopreservação do sêmen, este sofre percas de viabilidade decorrentes de diversos fatores como a formação de cristais de gelo, variações de temperatura e ação do estresse oxidativo. Neste sentido testes foram realizados buscando encontrar se há uma correlação entre as alterações na viabilidade pós congelada do sêmen, e a síntese de EROs, indicando que danos ao DNA e as membranas dos espermatozoides, são atrelados a ação e produção das EROs, porém ainda é inconclusivo essa correlação em relação a motilidade progressiva (YANG et al., 2016).

Visando melhorar a qualidade e capacidade do sêmen após a criopreservação, foram utilizados diluídos em sêmen ovino antioxidantes como ácido ascórbico e trolox, visando observar o impacto na fecundação pós criopreservação deste sêmen. Os dados obtidos durante os testes demonstram que os antioxidantes adicionados ao sêmen, melhoram sua qualidade após a descongelação (SOUZA; MORAES; TONIOLLI et al., 2017).

A criopreservação de sêmen bovino é uma biotecnologia imprescindível para a atividade atualmente, porém esta sofre com diversos problemas, dentre eles a ação das EROs, que podem causar danos as células seminais, para tentar evitar isso a adição de antioxidantes aos diluidores durante o processo de criopreservação do sêmen, tem demonstrado ser uma estratégia interessante. Para avaliar isso foram adicionados aos ejaculados de seis touros ésteres de pequi, para avaliar sua ação como antioxidante e seu impacto nas células seminais. Os testes demonstram que essa adição de ésteres de pequi ao sêmen bovino, é boa para a redução da peroxidação lipídica das células (LUSTOSA et al., 2025).

1.1.4 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são compostos presentes em sistemas biológicos e fontes naturais, eles têm uma grande importância na preservação das células contra a ação das EROs, que causam estresse oxidativo. Os danos causados por elas atingem diversos componentes celulares como lipídeos, proteínas e o DNA; na prática os antioxidantes agem como uma espécie de neutralizador, barrando ou prevenindo a ação dos radicais livres (FERREIRA, 2017).

Os danos das EROs aos espermatozoides em humanos é significativo, e afeta muitas pessoas pelo mundo. O aumento das EROs leva a estresse oxidativo que por sua vez causa peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e dano a qualidade dos parâmetros seminais. São várias as causas do aumento das EROs como o estilo de vida, a questão genética intrínseca a cada indivíduo e a alimentação, e para contornar isso além de mudar a rotina e alimentação uma opção muito utilizada é a terapia com antioxidantes (TAKALANI et al., 2023).

São várias as EROs que induzem o estresse oxidativo em mamíferos, esse por sua vez possuem um vasto tipo de agentes para combatê-las, como antioxidantes e enzimas de diversas funções. Um dos antioxidantes mais abundantes é a vitamina E que desempenha o papel, de mitigar a ação dos radicais livres diminuindo assim o estresse oxidativo sobre as células, estudos mostram que a vitamina E atua bem em relação aos radicais peroxila, e não atua bem com relação aos radicais hidroxila, alcóxila e tiila *in vivo*, porém ao atuar em conjunto com a vitamina C o efeito antioxidante da vitamina E é aumentado (NIKI, 2014).

A adição de agentes antioxidantes aos diluidores na criopreservação de sêmen trazem benefícios às avaliações seminais, uma importante classe dos antioxidantes são os tióis, que por sua vez demonstraram conseguir reduzir os efeitos negativos na motilidade espermática pós criopreservação, quando adicionados aos diluentes (BILODEAU et al., 2001).

Alguns grupos de compostos, como os polifenólicos, que compreendem compostos flavonoides e taninos, se destacam pela sua ação antioxidante, ao doar elétrons a radicais livres. Estes compostos estão presentes em diversos tipos de plantas e seus produtos e subprodutos, como os extratos vegetais. O extrato de chá-verde, por exemplo, demonstrou capacidade de diminuir o dano do estresse oxidativo a parâmetros como os da motilidade e viabilidade espermática em ratos (MAHMOUD et al., 2019).

A utilização e produção de antioxidantes sintéticos é um ponto a ser lavado em consideração, tendo um custo um pouco mais elevado, porém com outras vantagens como a certeza de sua ação, um destes antioxidantes é o análogo a vitamina E Butil-hidroxitolueno (BHT), que tem sido muito utilizado na criopreservação de sêmen em mamíferos. Em testes de com a sua adição ao sêmen de humanos, o BHT manteve os parâmetros das células seminais e se provou efetivo ao impedir a infecções de vírus transmitidos via sêmen (MERINO et al., 2015).

O surgimento de EROs é algo inerente às células seminais, e tem um papel dominante na qualidade dos gametas, elas atuam sobre ambos os gametas femininos e masculinos, ao induzirem o estresse oxidativo causam danos peroxidativos às membranas e danos ao DNA, causando assim danos às células reprodutivas. Afetando a fertilidade das células reprodutivas no âmbito natural e assistido, requerendo assim atenção em atividades que permeiam a reprodução (AGARWAL et al., 2014).

Quando testados em algumas espécies que ainda não possuem um protocolo de criopreservação de sêmen bem definido e efetivo, agentes antioxidantes como a o trolox e o ácido ascórbico, demonstram uma ação positiva sobre as células espermáticas, sendo essa adição individual ou em vezes em uma adição de uma ao outro (VARO-GHIURU et al., 2015).

Estudos recentes têm apontado que combinações de antioxidantes naturais podem apresentar efeito sinérgico. A associação entre ácido ascórbico e glutamina, por exemplo, quando testada em espermatozoides de suínos, demonstrou resultados superiores se comparados à utilização de cada um dos compostos de maneira isolada, demonstrando assim que, em alguns casos, a associação de agentes com capacidades antioxidantes pode ser benéfica (GIARRETA et al., 2015).

A escolha do antioxidante adequado deve considerar também sua toxicidade e biodisponibilidade, pois mesmo em seu uso isolado algumas substâncias, principalmente as provenientes de compostos naturais, podem ter algum efeito que prejudique as células. Compostos não compatíveis com a fisiologia espermática podem comprometer os resultados reprodutivos, como por exemplo o efeito do alumínio e do pH ácido que afetam a qualidade das células seminais negativamente (PINHEIRO, 2021).

O uso de antioxidantes também deve ser atentado quanto à finalidade, pois diferentes células reagem de maneira diferente aos seus compostos e suas combinações. Em bovinos, por exemplo, o uso de vitamina C e glutatona reduzida apresentam diferentes reações ao serem utilizadas no sêmen. Sendo que, ao serem utilizados juntos, esses compostos reagem de maneira negativa no sêmen, aumentando o estresse oxidativo nas células espermáticas. Isso, comparado ao resultado da glutatona usada sozinha, que demonstrou maior taxa de fecundação, mostra a importância de selecionar os antioxidantes de acordo com sua compatibilidade fisiológica com as células (PINTO, 2015).

A incorporação de antioxidantes derivados de plantas também tem se mostrado uma alternativa promissora para o uso na reprodução animal. Derivados da romã, por exemplo, têm demonstrado alta atividade antioxidante e segurança no seu uso no sêmen de bovinos, reduzindo o estresse oxidativo e, como consequência, demonstrando uma melhora da motilidade e viabilidade das células espermáticas (SHALABY et al., 2024).

Existe uma correlação ruim entre o estresse oxidativo e os parâmetros seminais, tendo impacto significativo quando aumentada a fertilidade. É importante mitigar essa ação, e a diminuição ou falta de antioxidantes no plasma seminal tem um papel significativo na disfunção dos parâmetros seminais (KHOSROWBEYGI & ZARGHAMI, 2007).

1.1.5 JATOBÁ

O Jatobá, *hymenaea courbaril*, é uma espécie de árvore que ocorre em boa parte do território brasileiro, podendo ocorrer desde o Piauí até o Paraná, é uma árvore de madeira densa que pouco sofre com o ataque de insetos. Esta planta é muito utilizada tanto para fins alimentícios pelo sabor único do seu fruto, tanto pela medicina popular, como antibacteriano e anti-inflamatório. E em testes com *Staphylococcus aureus*, macerações da planta demonstraram realmente ter essa capacidade, demonstrando assim um valor interessante de estudo.(CAMILO, 2020).

Muito utilizado na medicina popular, o jatobá vem demonstrando através de estudos um grande potencial de conter compostos fenólicos em sua composição, seja essa de frutos, folhas ou caule. Para comprovar foram colhidas folhas de jatobá, e produzidas a partir delas um extrato bruto, a fim de verificação de ação antioxidante, onde ele demonstrou ter ação antioxidante presente, porém por se tratar de um extrato bruto, não é possível garantir com precisão a origem desta ação, o que traz a necessidade de maiores testes com o jatobá (MIRANDA, 2014).

Para tentar combater a ação das EROs, que juntamente a outros agentes oxidantes causam distúrbio e condições patológicas em humanos e animais, a utilização de plantas medicinais como possíveis agentes antioxidantes se torna uma opção interessante para pesquisa. Testes utilizando as folhas, caule e frutos do jatobá como agente antioxidante e antimicrobiano, comprovaram uma interessante concentração de compostos fenólicos nos extratos de casca da planta, além de os extratos das folhas apresentarem compostos não antes encontrados na espécie, sugerindo assim que o jatobá possui um interessante uso como antioxidante (CRUZ, 2024).

Em estudo realizado com camundongos, que buscava observar a capacidade da ação antioxidante das sementes do jatobá, verificou-se uma ação positiva dos compostos fenólicos presentes na planta em tratamentos contra a ação de radicais livres nesses animais. Porém, apenas esse efeito positivo por si só não é o bastante para comprovar a efetividade da planta como agente antioxidante, tendo esta ainda

que ser testada em diferentes processos para sua validação (LINSBINSK et al., 2020).

Nos frutos do jatobá, além de açúcares e fibras, há presença significativa de carotenoides e vitamina C, compostos com ação antioxidante. Esses, por sua vez, contribuem para a neutralização de radicais livres e proteção contra a peroxidação lipídica. Estudos demonstram que extratos dos frutos apresentam atividade antioxidante comparável à de antioxidantes sintéticos comumente utilizados em outras atividades (CARDOZO et al., 2013).

Muitas plantas utilizadas na medicina popular possuem um valor para pesquisa, desde que essas podem possuir compostos metabólicos como flavonoides e terpenoides, neste sentido extratos de folhas, frutos, casca, polpa e semente de dois tipos diferente de jatobá foram testados para tentar identificar algum destes compostos metabólicos. Os testes apresentaram que com exceção dos extratos das polpas, os outros demonstraram presença de atividade antioxidante, tendo dos extratos aquele destacado com a maior quantidade destes o extrato das sementes (FIGUEIREDO et al., 2014).

A diferenciação entre antioxidantes naturais, como os extraídos do jatobá, e sintéticos, como o BHT, está no perfil de segurança e biodegradabilidade que ambos apresentam ao serem utilizados. Compostos naturais, além de apresentarem menor toxicidade, na maioria dos casos, são amplamente aceitos em protocolos que visam a sustentabilidade. O jatobá, nesse contexto, representa uma alternativa promissora aos antioxidantes sintéticos utilizados na experimentação animal (SILVA et al., 2017).

1.1.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Já foi comprovado que o jatobá possui agentes antioxidantes presentes na composição da sua casca, frutos e folhas, mesmo que isso tenha uma variação a depender da parte e método de extração utilizado. Essa ação antioxidante presente em sua composição, porém ainda carece de testes para determinadas áreas e verificar como se comportam em contato com diferentes células animais, tornando assim o jatobá uma agente viável para estudos nessa área.

1.1.7 REFERÊNCIAS

- ABUD, C. O. G.; ABUD, L. J.; OLIVEIRA NETO, J. C.; DODE, M. A. N.; SERENO, J. R. B.; MARTINS, C. F. Comparação entre os sistemas automatizado e convencional de criopreservação de sêmen bovino. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia-GO, v. 15, n. 1, p. 32-37, mar. 2014.
- AGARWAL, A.; FALCONE, T.; PAPPALARDO, M.; DELOUKA, E. Oxidative stress and its implications in female infertility – a clinician's perspective. *Reproductive BioMedicine Online*, v. 29, n. 1, p. 3–14, 2014.
- ALMEIDA, Í. C.; OLIVEIRA, T. C.; SILVA, R. R.; FERREIRA, J. L.; SANTOS, M. V. Taxa de prenhez em vacas de leite após uso de protocolos hormonais de inseminação artificial em tempo fixo. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, Niterói, v. 27, n. 3, p. 168–174, 2020.
- ALYETHODI, R. R.; KHAN, S.; ALI, M.; KHOSRAVI, M.; SAAD, A. Role of seminal MDA, ROS, and antioxidants in cryopreservation and their kinetics under the influence of ejaculatory abstinence in bovine semen. *Cryobiology*, v. 98, p. 187–193, fev. 2021.
- BARUSELLI, P. S.; NASCIMENTO, J. S.; RODRIGUES, C. A.; MARTINS, C. H. Challenges to increase the AI and ET markets in Brazil. *Animal Reproduction*, Belo Horizonte, v. 16, n. 3, p. 364–375, 2019.
- BARUSELLI, P. S.; MOURA, A. S. A.; VIEIRA, L. M.; MARTINS, C. H. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, Los Altos, v. 65, n. 1/7, p. 77–88, 2006.
- BARUSELLI, P. S.; VIEIRA, L. M.; NASCIMENTO, J. S. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Animal Reproduction*, Belo Horizonte, v. 14, n. 3, p. 558–571, 2017.
- BERTOL, M. A. F. Potencial de fertilização in vitro e in vivo de espermatozoides bovinos criopreservados de epidídimos mantidos até 30 horas em temperatura ambiente (18–20 °C). 2016. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

BILODEAU, J. F.; SUH, T. K.; HENDERSON, G. I.; SPINELLI, J. Thiols prevent H₂O₂-mediated loss of sperm motility in cryopreserved bull semen. *Theriogenology*, v. 56, n. 2, p. 275–286, 2001.

CAMILO, C. J.; SILVA, F. A.; LIMA, R. R.; PEREIRA, M. A. Interferência do extrato de *Hymenaea courbaril* L. (jatobá) na atividade antibacteriana de aminoglicosídeos. *Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia*, v. 8, n. 1, p. 372–379, 2020.

CARDOSO, L. M.; OLIVEIRA, D. S.; BEDETTI, S. F.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. 'Jatobá do cerrado' (*Hymenaea stigonocarpa*): chemical composition, carotenoids and vitamins in an exotic fruit from the Brazilian Savannah. *Fruits*, 2013.

CARVALHO, B. C. de; CHILITTI, G. M.; IMBELLONI, J. C. G. *Inseminação artificial em bovinos*. [S. l.]: Agrolivros, 2011. ISBN 978-85-7776-146-3.

COLOMBO, A. H. B.; SILVA, R. A.; MOURA, D. S.; FERREIRA, L. Avaliação de biotécnicas da reprodução sob o foco ambiental. *Animal Reproduction Science*, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 1–11, 2023.

CONSENTINI, C. E. C.; MOTTA, J. C. L.; PRATA, A. B. *Manual de inseminação artificial e IATF em bovinos*. Uberaba, MG: ASBIA, 2020. 52 p. ISBN 978-85-61949-38-9.

CREPALDI, G. A. Desenvolvimento do uso de sêmen sexado refrigerado na IATF de vacas de corte. 2023. 145 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

CROCOMO, L. F.; SILVA, R. S.; MOURA, J. Produção de embriões in vitro: estresse oxidativo e antioxidantes. *Veterinária e Zootecnia*, v. 30, n. 1, p. 1–11, 2023.

CRUZ, J. E. R.; SILVA, M. C.; PEREIRA, F. S.; OLIVEIRA, R. Avaliação dos efeitos antioxidante, antimicrobiano e antibiofilme de extratos de *Hymenaea courbaril* (Jatobá) e caracterização química por UPLC-ESI-QTOF-MS/MS. 2024.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 63, n. 1, p. 103–110, 2017.

FIGUEIREDO, P. A.; LIMA, R. S.; SILVA, F. P. Avaliação do potencial antioxidante, citotóxico e fotoprotetor de extratos de *Hymenaea courbaril* L. e *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne. 2014. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2014.

GIARETTA, E.; ESTRADA, E.; BUCCI, D.; SPINACI, M.; RODRÍGUEZ-GIL, J. E.; YESTE, M. Combining reduced glutathione and ascorbic acid has supplementary beneficial effects on boar sperm cryotolerance. *Theriogenology*, v. 83, n. 3, p. 399–407, 2015.

GIORDANO, M. E.; CARICATO, R.; LIONETTO, M. G. Concentration dependence of the antioxidant and prooxidant activity of Trolox in HeLa cells: involvement in the induction of apoptotic volume decrease. *Antioxidants*, v. 9, n. 12, p. 1216, 2020.

HOSSEPIAN DE LIMA, V. F. M. Avanços metodológicos na seleção do sexo de espermatozoides bovinos para utilização no melhoramento genético e na produção animal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Jaboticabal, v. 36, p. 219–228, 2007.

KHOSROWBEYGI, A.; ZARGHAMI, N. Levels of oxidative stress biomarkers in seminal plasma and their relationship with seminal parameters. *BMC Clinical Pathology*, v. 7, n. 6, p. 1–6, 2007.

LEITE, P. A.; SILVA, R. S.; OLIVEIRA, F. Criopreservação do sêmen bovino. *UNOPAR Cient. Ciênc Biol Saúde*, v. 13, n. 4, p. 279–286, 2011.

LINSBINSKI, P. D.; SANTOS, A. F.; OLIVEIRA, C. Avaliação antioxidante do extrato de semente de *Hymenaea courbaril* L. (jatobá) em camundongos tratados com acetaminofeno. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 25, n. 1, p. 1–13, 2020.

LUSTOSA, M. S. C.; NASCIMENTO, I. M. R.; SOUZA, J. A. T.; ARAÚJO, R. L. B.; CUNHA, E. V. L.; OLIVEIRA, A. F. M.; FREITAS, C. I. A.; MOURA, A. A. A. Potencial antioxidante dos ésteres de pequi (*Caryocar coriaceum*) na criopreservação de sêmen bovino e na fertilização in vitro. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 26, 2025.

LUZ, M. R.; CELEGHINI, E. C. C.; BRANDÃO, F. Z. Reprodução animal: bovinos, caprinos e ovinos. Vol. 2. Barueri: Manole, 2024. 453 p. ISBN 978-85-204-9539-2.

MAHMOUD, A. M.; ALI, H. M.; SAEED, H. M.; KHALIL, M. M. Green tea polyphenols mitigate the adverse effects of cadmium chloride on reproductive function in male Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 111, p. 802–810, 2019.

MAZZILLI, F.; DE SANTIS, R.; GIULIANI, L.; PAGLIUCA, G.; BARTOLUCCI, G. Human sperm cryopreservation and reactive oxygen species (ROS) production. *Acta Europaea Fertilitatis*, Roma, v. 26, n. 4, p. 145–148, jul./ago. 1995.

MERINO, O.; MARTÍNEZ, A.; FERNÁNDEZ, J. Protective effect of butylated hydroxytoluene on sperm function in human spermatozoa cryopreserved by vitrification technique. *Andrologia*, v. 47, n. 1, p. 70–77, 2015.

MIRANDA, A. R.; CASTRO, C. F. S.; SILVÉRIO, M. D. O. Avaliação da atividade antioxidante e inibição da tirosinase do extrato das folhas do jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 16, p. 693–699, 2014.

NIKI, E. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: in vitro and in vivo evidence. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 66, p. 3–12, 2014.

ORSI, P. R.; SEITO, L. N.; DI STASI, L. C. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: a tropical medicinal plant with intestinal anti-inflammatory activity in TNBS model of intestinal inflammation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 151, n. 1, p. 380–385, 2014.

PINHEIRO, J. P. S. Influência do alumínio e do pH ácido, associados às variações de biodisponibilidade e na toxicidade de diferentes poluentes e, consequentemente, na fisiologia dos organismos aquáticos. 2021. 200 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

PINTO, S. C. C. Avaliação do uso de antioxidantes na criopreservação de sêmen bovino. 2015. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2015.

RIBAS-MAYNOU, J.; MUIÑO, R.; TAMARGO, C.; YESTE, M. Cryopreservation of bovine sperm causes single-strand DNA breaks that are localized in the toroidal regions of chromatin. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, v. 15, art. 140, 2024.

RUSSI, L. dos S.; SILVA, E. V. C. e; NETO, C. E. S. Importância da capacitação de recursos humanos em programas de inseminação artificial. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 33, n. 1, p. 26–33, 2009.

SHALABY, F. M.; ALI, H. R.; MAHMOUD, A. M.; EL-SHATOURY, E. H. The Beneficial Impact of Pomegranate Oil Nanoemulsion on the Quality of Cryopreserved Bovine Sperm: Antioxidant and Anti-Apoptotic Effects. *Animal Bioscience*, v. 25, p. 1–12, 2025.

SILVA, D. S. da; ABREU, W. C. de; ROSA, T. S. Chemical composition and antioxidant activity of jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.). *Food Science and Technology*, Campinas, v. 37, supl. 1, p. 54–59, 2017.

SOUZA, W. L.; SILVA, R. S.; OLIVEIRA, T. L.; CARVALHO, A. G.; ALMEIDA, J. A. Adição de antioxidantes ao sêmen de carneiros e seus efeitos após a descongelação. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Belo Horizonte, v. 37, n. 5, p. 475–480, 2017.

TAKALANI, N. B.; MOKGOKONG, R.; NDABA, T. Role of oxidative stress in male infertility. *Reproduction and Fertility*, v. 4, n. 3, e230024, 2023.

VARO-GHIURU, F.; PÉREZ, L.; RODRÍGUEZ, M.; GARCÍA, E.; MARTÍNEZ, R. Lutein, Trolox, ascorbic acid and combination of Trolox with ascorbic acid can improve boar semen quality during cryopreservation. *Cryo Letters*, v. 36, n. 1, p. 1–7, jan./fev. 2015.

WANG, X.; YANG, J.; XUE, J.; ZHANG, M.; ZHANG, F.; WANG, K.; LI, Y.; ZHANG, Y.; WU, X.; WANG, F.; ZHAO, X.; NI, J.; MA, Y.; LI, R.; WANG, L.; SU, G.; GAO, Y.; LI, J. Genetic parameters of semen traits and their correlations with conformation traits in Chinese Holstein bulls. *Veterinary Medicine International*, jan. 2024.

YANG, H.; LI, J.; WANG, X.; ZHANG, M.; WANG, K. Effects of cryopreservation on sperm viability, synthesis of reactive oxygen species, and DNA damage of bovine sperm. *Cryobiology*, v. 73, n. 3, p. 437–442, 2016.

CAPÍTULO 2 TESTES DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL.

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho observar a resposta do óleo essencial de jatobá extraído durante o experimento como agente antioxidante adicionado ao sêmen bovino. Todas as etapas do processo foram executadas durante o experimento desde a coleta, processamento, envase, testes e análises do óleo essencial, após a produção este foi utilizado em 4 touros diferentes, porém apenas em uma deles obteve-se inicialmente o resultado esperado, sendo que no final o óleo não se provou um agente antioxidante viável.

Palavras-chave: Sêmen bovino; Jatobá; andrológico.

ABSTRACT

The objective of this study was to observe the response of jatobá essential oil extracted during the experiment as an antioxidant agent added to bovine semen. All stages of the process were carried out during the experiment, including collection, processing, bottling, testing, and analysis of the essential oil. After production, the oil was used in four different bulls. However, only one of them initially achieved the expected results, and the oil ultimately proved ineffective as an antioxidant agent.

Keywords: Bovine semen; Jatobá; andrological.

2.1 INTRODUÇÃO

A pecuária é uma das principais atividades econômicas em muitas regiões do mundo, fornecendo alimentos provenientes de animais adequados para consumo humano. Ela desempenha um papel importante na economia global, fornecendo produtos e subprodutos de origem animal, que por sua vez compõe grande parte do dia a dia das pessoas (HERRERO et al., 2013).

Nesse contexto a reprodução animal é um componente essencial da pecuária, desempenhando um papel crucial na sustentabilidade e produtividade dessa indústria. Como observado em estudos recentes, a eficiência reprodutiva é um dos principais determinantes do sucesso econômico na criação de animais para produção (LUCY, 2001).

No entanto diversos são os desafios encontrados na reprodução animal. No processo de criopreservação de sêmen por exemplo, base para ser utilizado em diversas biotecnologias reprodutivas, temos como um dos fatores de comprometimento o estresse térmico e oxidativo. Sendo uma das perspectivas mais promissoras para solucionar esse problema a utilização de agentes antioxidantes (LINDEMANN et al., 2008).

Plantas nativas são reconhecidas como uma rica fonte de compostos bioativos, incluindo agentes antioxidantes, estudos tem demonstrado seu potencial na mitigação do estresse oxidativo. A diversidade de plantas nativas oferece uma ampla gama de compostos bioativos, dentre eles de agentes antioxidantes, revelando novas oportunidades para promover estes agentes e explorar seus usos (ZOHARY, 2000).

Diante disso integrar agentes antioxidantes derivados de plantas nativas na reprodução pode representar uma estratégia promissora para alguns problemas que se encontra durante a execução de atividades relacionadas a reprodução animal. O investimento e testes nessa área de pesquisa de agentes antioxidantes e plantas nativas é crucial para enfrentar os desafios encontrados, e melhorar a eficácia das tecnologias atualmente empregadas no âmbito da reprodução animal. O objetivo desse trabalho foi verificar a capacidade ou não de ação antioxidante do óleo essencial de jatobá, quando utilizado nas células seminais.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 PRODUÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE JATOBÁ

Para a realização do trabalho final, foi dividido o experimento em duas etapas, a primeira foi a coleta e produção do óleo essencial do jatobá, e a segunda a utilização desse óleo essencial na criopreservação de semên bovino. Para a realização da primeira etapa foi coletado no município de Sanclerlândia – GO, durante os meses de agosto e setembro de 2023, 60 kg de frutos de jatobás que foram armazenados em local fresco, para posterior beneficiamento, durante esse processo foram selecionados apenas os frutos que não apresentavam nenhuma lesão, para evitar danos e alterações nas próximas etapas do processo de produção do óleo essencial.

Para processo de produção, os frutos de jatobá foram quebrados, com o auxílio de um martelo, e foi separado a poupa da casca, esta última que seria utilizada na produção do óleo essencial. A escolha da produção do óleo foi realizada levando em conta disponibilidade dos equipamentos de extração disponíveis no laboratório, e os métodos de produção disponíveis para a extração do óleo, após a separação foi obtido um total de 20 kg de casca de jatobá, dispostos em 4 sacos de aproximadamente 10 kg cada, descartando a polpa e as sementes.

Para a produção do óleo casca foi triturada em um rolo faca, para ficar menor e possibilitar uma melhor extração. As cascas foram primeiramente maceradas com o auxílio de um bastão, para terem um tamanho adequado para beneficiamento no rolo faca, após beneficamente no rolo faca a casca se transformou em uma farinha, rendendo um volume aproximado de 6,3 kg, tendo em vista que uma parte era perdida no beneficiamento ao ser expelida de maneira espontânea pelo rolo faca.

O método de extração utilizado para extrair o óleo essencial da farinha foi o método de Clevenger, seguindo a metodologia descrita por (DAS MERCÊS et al., 2018), o total da farinha foi dividido em diferentes partes, totalizando 11 separações

totais, para que fosse possível distribuir de maneira homogênea para extração, cada uma dessas extrações foram realizadas em um dia pela equipe da UEG Anápolis, após a extração o óleo essencial foi armazenado em recipientes de vidro, cor âmbar, para evitar o contato com a luz solar e preservar sua eficiência, no final armazenados em um congelador, sendo somente posteriormente retirados quando utilizados na próxima etapa do experimento.

Do total foram produzidos um volume de 2,896 g de óleo essencial de jatobá, divididos em 11 frascos com diferentes volumes, sendo eles 0,055; 0,076; 0,043; 0,045; 0,035; 0,026; 0,045; 0,036; 0,033; 0,067; 0,035. Finalizando assim essa etapa da extração com o envio de todo o óleo essencial via transporte institucional para a BIOTEC (Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal da UEG), para sua preservação os óleos foram acomodados em uma caixa de isopor devidamente lacrada e mantida em uma caixa térmica preservada com o auxílio de bolsas de gelo gel, mantendo assim a temperatura correta dos óleos até a chegada ao BIOTEC aonde foi novamente colocado no congelador para posterior utilização. Segue imagem demonstrando o óleo essencial já envasado.

2.2.2 PREPARO DOS REPRODUTORES

O próximo passo do experimento foi a utilização do óleo essencial durante a criopreservação de sêmen bovino, como agente antioxidante, para verificar sua efetividade nas avaliações posteriores do ejaculado.

Os testes práticos ocorreram de outubro a dezembro de 2024, onde primeiramente os touros foram esgotados, e avaliados para observar a viabilidade do seu ejaculado, descartar possíveis células velhas e forçar a produção de novas células espermáticas. A partir disso a coleta acontecia 2 vezes na semana, em cada dia de experimento eram coletados de 1 a 2 animais, a depender da qualidade e volume do ejaculado, e esses somente eram coletados novamente na outra semana, visando preservar a qualidade das células e evitar o estresse do touro, tendo em vista que um

reprodutor deve ser coletado no máximo 2 vezes por semana com um intervalo de no mínimo 2 dias entre cada coleta.

Para a coleta do sêmen foi seguido o protocolo descrito por (CURRY,1995), os mesmos foram contidos em um brete de contenção, e estimulados com um eletroejaculador TK 800 automático/manual, com voltagem de 8V por 6 segundos e intervalos entre estímulo de 6 a 10 segundos, o animal era previamente checado com uma palpação retal para avaliação de sua próstata, vesícula e ampolas seminais, posteriormente era feita a limpeza do prepúcio com o auxílio de soro fisiológico e papel toalha e também realizada as aferições de circunferência, largura e comprimento do testículo (Caso fosse a primeira coleta do animal, ou caso fosse a primeira coleta em algum tempo).

Se tudo estivesse correto para um reprodutor viável, era realizada a estimulação no animal com o auxílio do eletroejaculador, o ejaculado coletado era avaliado quanto as análises subjetivas, uma amostra era retirada para realização de uma lamina de morfologia espermática, e este era diluído em uma proporção de 1-1 de ejaculado para diluidor, para preservação da viabilidade das células, era colocado em um banho maria para manter sua temperatura próxima entre 36 e 37 °C.

Essa etapa foi toda realizada no BIOTEC, para sua execução foram utilizados um total de 4 touros, de diferentes idades e graus de cruzamento, da raça Girolando, que estão presentes no laboratório.

2.2.3 UTILIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

O planejamento do experimento proposto foi a utilização do óleo essencial nos 4 touros presentes no laboratório, cada ejaculado coletado dos touros foi primeiro avaliado, para verificar sua viabilidade, sendo os critérios definidos em análises subjetivas: motilidade, vigor e turbilhonamento, sendo um motilidade ideal superior a 70% sendo avaliado de 0 a 100, um vigor 3 ou superior avaliado de 1 a 5 e um turbilhonamento 3 ou superior avaliado de 1 a 5. Sendo esse padrão seguindo a partir

do trabalho de (FREITAS-DELL'AQUA et al., 2009). Além disso os ejaculados também eram submetidos a uma avaliação morfológica para verificar os possíveis defeitos menores e maiores presentes no sêmen, sendo que ele não deveria ter mais de 5% de defeitos maiores e mais de 10% de defeitos menores para continuar as etapas do planejamento.

Sendo aprovado nessas fases preliminares, o ejaculado seria dividido em 4 frações totais iguais, para quatro grupos de tratamento, ejaculado + diluidor (Foi utilizado um diluidor a base de gema de ovo e glicerol), T1 ejaculado + diluidor + 25 µl de óleo essencial, T2 ejaculado + diluidor + 50 µl de ejaculado e T3 ejaculado + diluidor + 100 µl de óleo essencial.

Os equipamentos utilizados em todo o processo foram um eletroejaculador, microscópios, mesas aquecedoras, um banho e maria, uma geladeira, uma bancada de resfriamento de sêmen. Além de lâminas e lamínulas para microscópio, corante panótico, tubos Falcon de 15 e 30 ml, eppendorf e pipetadores de diferentes volumes.

Cada tratamento passou por 3 etapas, sendo duas validações e uma criopreservação. Posteriormente foi descongelado e analisado quanto as análises subjetivas de motilidade e vigor, morfologia, teste de resistência de membrana e por fim o CASA (Análise computadorizada de sêmen), para comparar os resultados apresentados nessas quatro avaliações e comprovar a efetividade ou não do óleo essencial como um agente antioxidante viável na criopreservação de sêmen bovino.

Seguindo a logística esses ejaculados, divididos nos 4 tratamentos, passaram por avaliações imediatas nos tempos de 10 minutos após diluição, 30 min, 1 hora e 2 horas. Além das avaliações imediatas também eram feitas lâminas de morfologia espermática de cada tratamento durante os respectivos horários, para verificar alguma alteração dos valores de defeitos maiores e menores, em relação ao ejaculado recém coletado e entre os próprios tratamentos. E por fim caso fossem aprovados nas análises subjetivas seriam submetidos a avaliação do CASA, para uma análise mais precisa dos dados.

Para a segunda validação o ejaculado foi refrigerado, seguindo esse processo esses ejaculados não iriam permanecer em banho maria para a suas avaliações e sim iria ser submetido a uma refrigeração, aonde a temperatura do sêmen é baixada até 5°C com o auxílio de uma bancada de resfriamento ou de uma geladeira, neste passo o sêmen iria ser avaliado imediatamente após a diluição dos tratamentos quanto as avaliações subjetivas, morfologia e CASA. Passando 3 horas com a temperatura estabilizada em 5°C os tratamentos seriam novamente submetidos as mesmas avaliações feitas inicialmente.

As amostras, com os melhores resultados nas avaliações seriam submetidos ao processo de criopreservação (Juntamente ao grupo controle). Nesta fase foram realizadas 3 repetições com 3 touros diferentes, onde foram realizadas todas as análises pré criopreservação como nas demais etapas, e após o processo, as palhetas seriam descongeladas, e avaliadas quanto a integridade de membrana, morfologia e CASA.

As análises anteriormente descritas e que foram utilizadas no decorrer do experimento, foram realizadas da seguinte forma. Nas análises subjetivas, a motilidade é feita ao pipetar uma gota de sêmen com um pitador de 10 microlitros sobre uma lâmina e sobre essa gota é colocada uma lamínula, esta lâmina é levada ao microscópio sobre uma objetiva de 10x, onde avaliamos a quantidade de espermatozoides que estão se movimentando de um todo, essa quantidade é então mensurada de 0% a 100%. Para a avaliação do Turbilhonamento uma gota do sêmen coletado é pipetada com um pitador de 10 microlitros e é depositada sobre uma lâmina e sobre essa gota é colocada uma lamínula, nesse caso é utilizado uma objetiva de 4x para mensurar a formação de um turbilhão pelos espermatozoides, esse turbilhão é avaliado de 1 a 5, esta é a primeira avaliação a ser feita logo após a coleta, tendo em vista que após alguns minutos não é mais possível observar o turbilhonamento do ejaculado coletado. A última das análises subjetivas é a mensuração do vigor, este por sua vez é feito seguindo o mesmo padrão dos anteriores quanto a sua colocação no microscópio, mas nesse caso é observado o quantitativo de espermatozoides que estão se movendo em linha reta, este quantitativo é mensurado de 1 a 5.

Para a realização da morfologia espermática, uma gota do sêmen pre diluído, é pipetado em um pipetador de 10 microlitros e colocado em um eppendorf contendo 500 microlitros de solução formol salina, este é homogeneizado, deste eppendorf é retirado com o mesmo pipetador, mas com outra ponteira, de uma a duas gotas que são colocadas sobre uma lamina, nesta lamina com a/as gota/as apoia-se outra lamina e realiza-se um esfregaço do esperma por toda ela, similar a técnica utilizada para a preparação de laminas de esfregaço sanguíneo. Esta lâmina é então deixada para secar, após seca ela é tingida com corante panótico, sendo deixada para coração durante um minuto em cada recipiente na ordem solução 1 triarilmetano a 0,1% - 500 ml, solução 2 xantenos a 0,1% - 500 ml e por fim solução 3 tiazinas a 0,1% - 500 ml. Depois de seca a lâmina é levada ao microscópio sobre a objetiva de 100x, onde utilizamos na lâmina uma gota de óleo de imersão para evitar danificar a objetiva, nesta parte iremos contabilizar 200 espermatozoides, e de cada uma iremos avaliar sua morfologia, caso o espermatozoide tenha algum defeito esse será anotado, ao fim da contagem iremos avaliar os defeitos vistos, destes não podendo ultrapassar 5% de defeitos caracterizados como maiores, e 10% caracterizados como menores. Segue as imagens com algumas demonstrações das atividades realizadas, descritas anteriormente.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a execução da etapa de produção do óleo essencial uma fração do óleo foi retirada para ser utilizada em um equipamento para mensurar e analisar a composição bioquímica do óleo, o resultado dessa análise assim como os dados da extração do óleo, constam nas tabelas a seguir:

Tabela 1 – Constituintes químicos identificados no óleo essencial dos frutos do Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.).

Compostos ^a	IR ^b	IR ^c	Teor (%) ^d
α -Cubebeno	1349,93	1348	0,53
α -Copaeno	1376,33	1374	2,81
β -Elemeno	1392,07	1389	0,76
(E)-Cariofileno	1419,86	1417	4,35
γ -Elemeno	1433,62	1434	0,58
α -trans-Bergamoteno	1435,96	1432	0,51
Aromadendreno	1439,26	1439	0,41
α -Humuleno	1453,73	1452	1,05
γ -Muuroleno	1476,86	1478	2,43
Amorpha-4,7(11)-dieno	1481,12	1479	0,56
β -Selineno	1486,34	1489	1,28
γ -Amorfeno	1494,76	1495	1,02
α -Muuroleno	1500,28	1500	0,57
γ -Cadineno	1514,34	1513	1,94
δ -Cadineno	1523,73	1522	2,42
α -Calacoreno	1542,65	1544	0,55
Germacreno B	1557,53	1559	0,55
Spatulenol	1578,97	1577	6,05
Óxido de Cariofileno	1584,94	1582	31,66
Salvial-4(14)-en-1-one	1593,59	1594	0,86
β -Oplopenono	1604,19	1607	0,48
Epóxido de Humuleno II	1609,46	1608	7,66
Junenol	1618,51	1618	0,40
Muurola-4,10(14)-dien-1- β -ol	1628,86	1630	1,64
cis-Cadin-4-en-7-ol	1632,32	1635	1,18
Cariofila-4(12),8(13)-dien-5-ol	1636,34	1639	4,20
Cubenol	1642,29	1645	0,91
α -Muurolol	1646,07	1644	0,39
14-hidroxi-(Z)-Cariofileno	1657,93	1666	6,65
14-hidroxi-9-epi-(E)-Cariofileno	1665,60	1668	0,25

Z- α -Santalol	1671,31	1674	6,88
Cadaleno	1674,84	1675	0,53
Mustakono	1677,68	1676	1,01
Manool	2054,95	2056	0,26
Sesquiterpenos hidrocarbonetos			23,33
Sesquiterpenos oxigenados			70,00
Total de compostos identificados			93,33

^a Compostos listados em ordem de eluição na coluna
^b Índice de Retenção (IR) determinado experimentalmente em relação à série de n-alcanos
^c Índice de Retenção (IR) da literatura (Adams, 2017)
^d Calculado a partir das áreas dos picos no cromatograma
Fonte: Arquivos pessoais.

A tabela um demonstra os constituintes do óleo essencial utilizado no experimento, onde podemos ver que a maioria dos compostos são sesquiterpenos que são uma classe de terpenos, dos encontrados temos os hidrocarbonetos e os oxigenados, estes últimos por sua vez tendem a apresentar atividade antioxidante, podemos destacar dos encontrados na análise o spatulenol que está presente em muitos óleos essenciais em grande quantidade, onde esses tem uma atividade antioxidante comprovada, como descrito por (SILVA et al., 2019).

Os resultados dos testes realizados entre outubro e dezembro de 2024 seguem nas tabelas a seguir:

Tabela 2. Coletas touro 4.

Avaliação	Coleta	
	1	2
Comprimento	10.6	10.6
testículo direito		

Comprimento testículo esquerdo	9.8	9.8
Largura testículo direito	6.8	6.8
Largura testículo esquerdo	7.4	7.4
Volume do ejaculado	5	-
Turbilhonamento (0- 5)	3	2
Vigor (0-5)	4	3
Motilidade (0-100%)	85	80
Concentração (x10 ⁶)	680	175
Circunferência escrotal	37	37
Defeitos maiores %	1,5	-
Defeitos menores %	2,5	-

Na tabela 2 podemos observar os dados das duas primeiras coletas do touro 4, sendo que na primeira coleta o animal foi aprovado e na segunda reprovado, por ter um volume de ejaculado insuficiente para algumas aferições.

Tabela 3. dados da validação touro 4 29/11/2024

Avaliação	Grupos			
	Controle	2 µl	5 µl	10 µl

Motilidade (10 min)	85	85	85	85
Vigor (10 min)	3	3	3	3
Motilidade (1 h)	85	85	85	85
Vigor (30 min)	3	3	3	3
Motilidade (2 h)	60	60	5	45
Vigor (2 h)	3	3	3	3
Motilidade (3 h)	0	0	0	0
Vigor (3 h)	0	0	0	0
Defeitos maiores %	1,5	-	-	-
Defeitos menores %	2,5	-	-	-

Na tabela 3, realizada no ejaculado do touro 4 os grupos com adição do óleo essencial foram aprovados para a segunda etapa de validações, pois eles apresentaram valores de motilidade e vigor semelhantes aos do grupo controle.

Tabela 4. dados da refrigeração touro 4 13/12/2024

Avaliação	Grupos			
	Controle	2 µl	5 µl	10 µl
turbilhão(inicial)	2	-	-	-
Vigor (inicial)	3	-	-	-
Motilidade (inicial)	80	-	-	-
Concentração (x10 ⁶)	175			

Vigor (Bancada)	3	0	-	-
Motilidade (Bancada)	75	0	-	-
Vigor (geladeira)	3	0	-	-
Motilidade (geladeira)	75	0	-	-

Na segunda etapa de validações, tabela 4, os grupos com óleo essencial foram reprovados no teste, pois causaram a morte das células espermáticas.

Analizando os dados contidos nas tabelas, seguindo a análise estatística descritiva, podemos observar que o óleo essencial e jatobá foi ineficaz como agente antioxidante, tendo em vista que em comparação ao grupo controle os grupos de tratamento causaram a morte celular em praticamente todos os testes realizados, com a única exceção sendo o teste mostrado na tabela 3, tendo justamente este teste possibilitado o único teste da segunda validação, tabela 4, que foi justamente o último teste pratico do experimento, tendo em vista que o grupo controle sobreviveu ao resfriamento e o grupo tratamento não .

Não foi encontrada uma causa definitiva para esse problema, mas o principal fator que se aponta para esse resultado e a composição bioquímica presente no óleo, aonde algum dos componentes deve ser toxico para as células, outro fator que dificulta apontar a origem do problema é a falta de trabalhos científicos sobre o tema, ou mesmo de temas correlacionados, dificultando assim a obtenção de parâmetros para análises e comparações sobre o tema.

Com a finalidade de estabelecer uma correlação entre os compostos do óleo que foi produzido durante o experimento foi encontrada uma tabela de composição de Sales (2014), para observar se havia diferenças entre as composições de ambos, segue abaixo a tabela, mostrando grandes semelhanças entre o óleo produzido pelo autor e o produzido para o experimento.

Figura 1. Composição dos constituintes químicos do óleo de jatobá, adaptada de Sales (2014).

Constituinte	I.K	I.K _E	% Total
α -cubebeno	1351	1343	1,24
α -copaeno	1376	1376	8,46
β -cubebeno	1388	1387	0,57
β -elemeno	1390	1389	1,29
α -gurjeno	1409	1400	0,54
(Z)- β -cariofileno	1421	1421	17,56
β -copaeno	1432	1429	0,64
α -trans-bergamoteno	1434	1435	0,60
Aromadendreno	1441	1437	0,83
α -humuleno	1454	1456	3,26
Allo-aromadendreno	1460	1459	0,60
γ -muuruleno	1479	1479	4,01
Germacreno-D	1481	1481	17,61
Trans-Muurolo 4-(14)5, dieno	1493	1493	0,25
Biciclogermacreno	1500	1498	6,46
α -muuruleno	1500	1501	0,67
Germacreno A	1509	1508	0,39
γ -cadideno	1515	1513	1,67
δ -cadideno	1522	1522	4,43
Germacreno B	1561	1559	4,46
Espatuleno	1578	1580	2,63
Óxido de cariofileno	1583	1584	14,65
1,2-epóxido Humuleno	1608	1608	1,91
Total identificado			94,73%

I.K: Índice de Kovats da literatura. I.K_E: Índice de Kovats experimental.

Logo podemos concluir que não há problema com a produção do óleo essencial. Para a segunda pesquisa, foi realizada uma busca na literatura para encontrar artigos com ligação entre os compostos encontrados no óleo e a mortalidade das células, o que se mostrou frustrante pela falta de artigos relacionados ao tema.

Para fins de comparação foi encontrado um artigo envolvendo a utilização de óleo essencial e extrato bruto da casca de laranja na criopreservação de espermatozoides bovinos, segundo o trabalho conduzido por Brilhante (2022) o óleo essencial de laranja também causou mortalidade das células espermáticas.

Apesar das diferenças de obtenção das células utilizadas para a criopreservação e dos métodos usados, o resultado é parecido com o obtido no final do experimento, uma vez que a mortalidade dos espermatozoides nos grupos de tratamento utilizando óleos essenciais foi observada. No trabalho, a autora ainda utiliza outro tipo de composto obtido da planta, no caso o extrato bruto da casca da fruta. Este, por sua vez, não apresentou melhora ou piora nos parâmetros dos

espermatozoides, levantando ainda mais a suspeita de algum composto nocivo às células espermáticas presentes no óleo essencial.

Outro fator que pode ter causado o problema de morte celular é a dosagem utilizada do óleo essencial, como não se tem na literatura uma padronização da dosagem mínima e máxima suportada pelas células seminais do óleo essencial do jatobá, no decorrer do trabalho essa dosagem foi sendo alterada para tentar encontrar uma dosagem mínima suportável pelas células. Além da dosagem o método de utilização e mistura do óleo ao sêmen e/ou diluidor também são fatores a serem considerados.

Diferente do artigo abordado por Brilhante (2022), (LUSTOSA et al., 2025) traz um artigo sobre a utilização o óleo essencial o pequi como agente antioxidante, e em seu artigo eles conseguiram obter um resultado positivo, tendo como principais diferenças do processo utilizado no experimento o método de mistura do óleo essencial, aonde ela adiciona o óleo diretamente ao diluidor e somente após isso adiciona a mistura ao sêmen, outro fator que pode ser observado que difere do utilizado no experimento é a dosagem do óleo essencial, que é proporcionalmente menor a utilizada nos grupos do experimento, indicando assim que essa pode ter sido a ou uma das causas da mortalidade das células espermáticas.

2.4 CONCLUSÃO

O óleo essencial de jatobá obtido com o método de extração de cleverger não se provou um agente antioxidante viável para ser utilizado na criopreservação de sêmen bovino.

CAPÍTULO 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos durante o trabalho mostraram que o óleo essencial ao ser associado ao sêmen + diluidor causava a morte das células seminais, porém esse fato por si mesmo não desclassifica o jatobá como uma fonte de estudos para identificar um agente antioxidante viável para ser utilizado na criopreservação de sêmen bovino. Com os resultados obtidos no experimento podemos afirmar que com a dosagem e métodos utilizados o óleo essencial não se prova um agente antioxidante pois causa a morte das células, sendo indicado estudos com outras dosagens e métodos de diluição do mesmo a mistura de sêmen + diluidor.

Para aprofundamento do tema é indicado estudos com outros produtos da planta para verificar e garantir a possibilidade destes atuarem como antioxidante, esses produtos poderiam ser extratos hidroalcoólicos, extratos brutos entre outros, possibilitando assim uma confirmação ou não da ação antioxidante da planta nas células seminais.

CAPÍTULO 4 REFERÊNCIAS

BRILHANTE, C. E. A. P.; et al. Extração, caracterização e aplicação do óleo essencial e extrato bruto da casca de laranja pera na congelção de espermatozoides epididimários bovinos, 2022.

CURRY, M. R. Cryopreservation of semen from domestic livestock. In: DAY, J. G.; PENNINGTON, M. W. (ed.). *Cryopreservation and freeze-drying protocols*. Methods in Molecular Biology, v. 38. Totowa, NJ: Humana Press, 1995. p. 189-197.

DAS MERCÊS, P. F. F.; BESSA, C. M. A. S.; MALAFAIA, C. B.; CÂMARA, C. A. G.; SILVA, M. M. C.; BEZERRA-SILVA, P. C.; NAVARRO, D. M. A. F.; NAPOLEÃO, T. H.; OLIVA, M. L. V. Caracterização fitoquímica e avaliação do potencial acaricida e inseticida do óleo essencial de *Hymenaea courbaril* L. var. *courbaril* sobre o ácaro-

rajado e o gorgulho do milho. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, Recife, v. 3, n. 4, p. 417-428, 2018.

FREITAS-DELL'AQUA, C. P.; CRESPILO, A. M.; PAPA, F. O.; DELL'AQUA JUNIOR, J. A. Metodologia de avaliação laboratorial do sêmen congelado bovino. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 33, n. 4, p. 213-222, out./dez. 2009.

HERRERO, M.; et al. Biomass use, production, feed efficiencies, and greenhouse gas emissions from global livestock systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, v. 110, n. 52, p. 20888-20893, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1308149110>.

LINDEMANN, M. D.; et al. A regional evaluation of injections of high levels of vitamin A on reproductive performance of sows. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 86, n. 2, p. 333-338, 2008. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0087>.

LUCY, M. C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 84, n. 6, p. 1277-1293, 2001. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70158-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0).

LUSTOSA, M. S. C.; NASCIMENTO, I. M. R.; SOUZA, J. A. T.; ARAÚJO, R. L. B.; CUNHA, E. V. L.; OLIVEIRA, A. F. M.; FREITAS, C. I. A.; MOURA, A. A. A. Potencial antioxidante dos ésteres de pequi (*Caryocar coriaceum*) na criopreservação de sêmen bovino e na fertilização in vitro. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 26, e80138, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-6891v26e-80138>.

SALES, G. W. P. Avaliação da atividade antimicrobiana e do mecanismo de ação do óleo essencial extraído da casca de frutos da *Hymenaea courbaril* L. 2014. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Fortaleza, 2014.

SILVA, Y. F. S.; LOPES, J. A. D.; OLIVEIRA, A. P. S.; MENDONÇA, A. C. F.; SILVA, M. V.; ARAÚJO, E. C. C.; SILVA, J. F. Composition, antioxidant properties, and biological activities of the essential oil extracted from *Ocotea diospyrifolia* (Meisn.)

Mez. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, São Paulo, v. 55, n. 1, p. 1-10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/s2175-979020190001181056>.

ZOHARY, D.; HOPF, M.; WEISS, E. *Domestication of plants in the Old World: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley*. 3. ed. Oxford: Oxford University Press, 2000.