

TESTE DE PENETRAÇÃO OVOCITÁRIA HETEROSPÉRMICA – ESPERMATOZÓIDE EQUÍNO x OVÓCITO BOVINO LIVRE DE ZONA PELÚCIDA

Zúccari¹, C.E.S.N., Rodovalho², N., Dode², M.A.N.

¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS – Campo Grande/MS

²EMBRAPA – Gado de Corte – Campo Grande/MS

O teste de penetração de ovócito é utilizado na avaliação laboratorial da habilidade fertilizante dos espermatozóides. Podem ser usados ovócitos homólogos com a presença da zona pelúcida (ZP) ou ovócitos heterólogos livres de ZP, em geral, de hamster. O objetivo do presente estudo foi verificar qual o comportamento do espermatozóide eqüino co-incubado com ovócitos bovinos livres-ZP. Os ovócitos (n = 97) aspirados de ovários obtidos em abatedouros, foram maturados em TCM-199 suplementado com 10% de SFB, hormônios e antibióticos, numa atmosfera com 5% de CO₂, a 38,5°C / 24 horas. Após a maturação, os ovócitos foram desnudados e a ZP removida por digestão enzimática (tripsina 1%). Foi utilizado sêmen eqüino congelado que, após lavagem, foi capacitado utilizando-se o ionóforo de cálcio A23187 (Sigma) numa concentração final de 5 µM, por 30 minutos. Os ovócitos livres-ZP, em gotas de 200 µl de sp-TALP, foram co-incubados com os espermatozóides capacitados, numa concentração final de 1 x 10⁶ espermatozóides viáveis, por 4 horas a 38,5°C, em atmosfera com 5% CO₂. Os ovócitos foram então fixados em solução de ácido acético:álcool, corados com lacmóide e avaliados sob microscopia de contraste de fase para a determinação da taxa de penetração. A motilidade / vigor espermáticos médios, pós-descongelção e pós-capacitação, foram 36,67±5,77 / 2,67±0,58 e 20,00±10,00 / 2,67±0,58, respectivamente. A taxa de penetração foi de 44,33% (43/97). Do total de ovócitos penetrados 48,84% (21/43) apresentaram pró-núcleo masculino e 23,25% (10/43) foram penetrados por mais de um espermatozóide - polispérmicos. Os resultados demonstram a viabilidade em se utilizar ovócitos bovinos para testar a habilidade de penetração e formação de pró-núcleo masculino de espermatozóide eqüino.