

SBTE 003 Fisiologia da Reprodução do Macho e Tecnologia do Sêmen

33820
S1724

A osmolaridade do diluidor modifica a porcentagem de células hiperativas

A.F.C. de Andrade¹; M. Andrade Torres¹; G.M. Ravagnani¹; M. Sant'anna Moretti¹; F.O. Papa²; J.A.J. Dell'acqua²; M.A. Alvarenga¹; S.M. Massami Kitamura Marques¹¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, Brasil; ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.**Palavras-chave:** Osmolaridade; hiperativação; espermatozoides

A hiperativação deve ter seu início em lugar e momento apropriado para que o espermatozoide consiga realizar a fertilização. Sabe-se que o padrão de movimento de um espermatozoide hiperativo é representado pelo aumento do ALH (amplitude do deslocamento lateral da cabeça) e do VCL (velocidade curvilinear). As alterações de osmolaridade afetam em maior proporção a motilidade, quando comparada a outros parâmetros de qualidade e viabilidade espermática (Yest et al., 2010, Anim Reprod Sci, 119, 265-74). Assim, o presente experimento objetivou verificar se diferentes condições de osmolaridade alteram o percentual de espermatozoides hiperativos. Foram realizadas três coletas de sêmen de três cachasos (n=9). As amostras foram diluídas em meios com osmolaridades diferentes, a saber; 360 e 404 mOsm (Botupharma[®], Botucatu-SP, Brasil), que diferiram entre si alterando-se a diluição, 1,1 L e 1 L de água ultrapura, respectivamente. O sêmen *in natura* foi misturado aos diluidores até a obtenção da concentração de 30 x 10⁶ spz/mL. As análises foram realizadas aos 90 minutos, 24 e 48 horas após a diluição. Avaliaram-se alíquotas de 5 µL sob lâmina e laminula, pelo sistema de análise computadorizada do sêmen (SCA-Microptic[®], Microptic S.L., Barcelona, Espanha) com o ajuste da ferramenta Edit/Sort para os valores de ALH > 3,5 µm e VCL > 97 µm/s (Schmidt, 2004, Reproduction, 128, 171-79), para assim avaliar a porcentagem de espermatozoides hiperativos. O delineamento experimental foi em blocos casualizados adicionado do fator medidas repetidas no tempo. Os dados foram analisados pelo programa SAS (SAS Institute Inc., 2010), submetidos à análise de variância e as interações determinadas pelo teste de Greenhouse-Geisser. Não houve interação tempo x tratamento (p>0,05) para a variável analisada. Entretanto, houve um efeito (p=0,0582) de tratamento sob a hiperativação espermática, com percentuais de 16,66 ± 2,44 e 24,79 ± 3,46 para os tratamentos 360 e 404 mOsm, respectivamente. Esses resultados nos levam a acreditar que diluentes com osmolaridade de 404 mOsm tendem a resultar em maior porcentagem de espermatozoides hiperativos, no entanto, experimentos futuros com maior número de animais e repetições são necessários para confirmar essa hipótese.

Agradecimentos: À FAPESP processo 2011/23484-8 e a Botupharma[®]

SBTE 004 Fisiologia da Reprodução do Macho e Tecnologia do Sêmen

Efeito da refrigeração e criopreservação na viabilidade de espermatozoides do ejaculado e do epidídimo de touros Gir

A.M. Cunha¹; J.O. Carvalho²; M.N. Diógenes¹; C.F. Martins³; B.D. Marques Silva⁴; M.A.N. Dode⁴¹Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil; ²Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; ³EMBRAPA Cerrados/CTZL, Brasília, DF, Brasil; ⁴EMBRAPA Cenargen, Brasília, DF, Brasil.**Palavras-chave:** Bovino; epidídimo; espermatozoide

A utilização de espermatozoides epididimários em diferentes biotécnicas reprodutivas é uma ferramenta importante para a multiplicação de material genético de animais que morrem subitamente e/ou com incapacidade reprodutiva adquirida. Entretanto, para que se possam estabelecer procedimentos mais adequados para utilizar espermatozoides do epidídimo, é necessário conhecê-los quanto ao seu comportamento e viabilidade após situações de estresse como a refrigeração e criopreservação. Para avaliar e comparar as características de viabilidade espermática de espermatozoides epididimários e do ejaculado, foram utilizados sete touros Gir. O sêmen do ejaculado (EJ) foi coletado através de eletroestimulação. Após a coleta do ejaculado, os animais foram castrados e os testículos mantidos por duas horas a 5°C, simulando o transporte até o laboratório. Posteriormente, os espermatozoides da cauda do epidídimo foram coletados pelo método de extravasamento (EP). Em ambos os grupos os espermatozoides foram diluídos em meio tris-gema, envasados e refrigerados por quatro horas a 5°C e, então criopreservados. Após a refrigeração e a descongelamento, foram retiradas amostras para avaliação da motilidade total e progressiva em sistema computadorizado (CASA), integridade de membrana plasmática, avaliada com iodeto de propídeo (IP) e diacetato de 6-carboxifluoresceína (C-FDA) e a integridade acrossomal pela técnica *Peamut agglutinin* (PNA conjugada ao FITC). Os dados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey (P<0,05). Após a refrigeração os espermatozoides do epidídimo apresentaram maior motilidade total, motilidade progressiva e integridade acrossomal do que os do ejaculado sendo 58,9±21,2% e 79,5±5,9%; 29,6±13,9% e 46,1±7,2%; 48,9±20,6% e 69,4±7,3%, respectivamente. Entretanto, a porcentagem de células com membrana plasmática íntegra foi semelhante entre os dois grupos (EJ=56,4±16,6% e EP=69,7±8,8%). Após a descongelamento, não foi encontrada diferença, em nenhuma das características estudadas, motilidade total, motilidade progressiva, integridade acrossomal e integridade de membrana plasmática, sendo 48,4±9,8% e 54,2±10,7%, 26,3±8,8% e 35,4±11,3%, 41,3±12,9% e 46,8±7,6% e 41,6±11,9% e 50,8±9,0%, para o EJ e EP, respectivamente. Os resultados indicam que espermatozoides epididimários são mais resistentes à refrigeração do que os do EJ, mas se comportam de maneira semelhante quando submetidos à criopreservação. Entretanto, mais estudos são necessários para avaliar outras características, tais como longevidade, capacitação, resposta aos processos de seleção espermática para a FIV, capacidade de ligação à zona pelúcida, entre outros.