

Avaliação de sêmen ovino através de dois métodos de seleção espermática

Jorgea Pradieé^{1*}; Alexander de Oliveira Gonçalves²; Liziane Lemos Vianna. ³; Elisa C.S. Santos ⁴;
Ledi Bitencourt Anghinoni⁵; Ligia M.Cantarelli Pegoraro ⁵.

^{1,2,3,4} Universidade Federal de Pelotas (UFPel); ⁵ Embrapa Clima Temperado

jpradiee@veterinaria.med.br

Um dos desafios da produção *in vitro* (PIV) de embriões ovinos é a seleção espermática para posterior fecundação *in vitro* (FIV). Este trabalho teve por objetivo avaliar a taxa de sobrevivência do sêmen ovino após processo de seleção espermática com dois métodos diferentes: Swim up e Mini Optiprep. Foram realizadas três coletas de sêmen de três machos ovinos mantidos sob o mesmo manejo em uma área pertencente ao Biotério Central (UFPel – RS), a coleta foi realizada através de vagina artificial. Imediatamente após a coleta o sêmen foi diluído em condições isotérmicas (1:1 v/v) com TRIS e gema de ovo, e então formado um pool com os três ejaculados. A motilidade espermática foi determinada como o percentual de células com movimento progressivo visualizadas no campo do microscópio, com escala entre 0 e 100%, e o cálculo da concentração espermática foi realizada pela contagem na câmara Neubauer. Para a seleção espermática foi utilizado sêmen fresco diluído. O método Swim up foi realizado com a deposição de 200µL de sêmen sob 1mL de TRIS em eppendorf e então incubados por 20 minutos em estufa de CO₂ a 39°C. Após, 500µL do sobrenadante foi retirado e resuspendido em 500µL de meio de capacitação SOF (Synthetic Oviduct Fluid) sem aminoácidos contendo soro de ovelha em cio (2%), centrifugados a 200 g por cinco minutos. Depois de centrifugado o sobrenadante foi retirado e o pellet resultante resuspendido em 60µL de meio SOF. Já o método Mini Optiprep foi realizado com gradientes preparados na concentração de 30, 28 e 26%, após estes gradientes foram colocados em eppendorf, e sobre estes gradientes foi acrescido 200µL de sêmen, e então centrifugados duas vezes. A primeira por 900 g durante quinze minutos, após o sobrenadante foi removido e o pellet resuspendido em 400µL de meio de capacitação e a segunda vez, centrifugados a 700 g por cinco minutos, onde novamente o sobrenadante foi removido e o pellet resuspendido em 60µL de SOF. Após este processo as amostras foram incubadas a 39°C em estufa de CO₂ e avaliadas quanto à motilidade espermática, sendo as avaliações feitas a cada hora. Os resultados encontrados foram de 90% de motilidade espermática pré-seleção. Pós seleção espermática no método Swim up obtivemos 70, 80 e 70% de motilidade espermática e 30, 10 e 15% no método mini Optiprep, nas três coletas realizadas respectivamente. Uma hora após o processo de seleção a motilidade espermática encontrada nas três análises foi de 60, 50 e 65% no método Swim up e de 0% no método Mini Optiprep. Estes resultados prévios mostram um melhor resultado da utilização do método Swim up quando comparado ao método Mini Optiprep nas condições deste experimento (velocidade de centrifugação), porém é um método que pode ser aperfeiçoado.

Palavras-chave: sêmen, seleção espermática, ovinos

“Apoio: Capes”.