



## Estabelecimento de protocolos para seleção e indução da capacitação espermática em caprinos

*Establishment of protocols for selection and induction of sperm capacitation in goat*

**C.C.S. Olivares<sup>1,4</sup>, F.Z. Brandão<sup>1</sup>, J.F. Fonseca<sup>2</sup>, L.S.A. Camargo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ; MG; <sup>2</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, MG; <sup>3</sup>Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora.

<sup>4</sup>E-mail: ccs.olivares@gmail.com

### Introdução

A introdução da produção *in vitro* de embriões (PIVE), implicou no desenvolvimento de diferentes métodos de preparação espermática que mimetizam o processo *in vivo* (Henkel e Schill, 2003). O presente estudo teve como objetivo aperfeiçoar a etapa de preparação espermática em caprinos, aprimorando os protocolos de seleção espermática e indução da capacitação a fim de melhorar a viabilidade dos espermatozoides e o sucesso da PIVE.

### Material e Métodos

Na etapa de seleção espermática, foi utilizado sêmen congelado de nove machos da raça Saanem que foram submetidos a diferentes métodos de seleção: Swim-up, gradiente de Percoll e lavagem por centrifugação (LC). No ensaio de indução à capacitação foi utilizado sêmen de sete machos da raça Saanem que foram submetidos à indução através das concentrações de 10, 50 e 100µM de nitroprussiato de sódio (NPS) e 50 µg/mL de heparina. Adicionalmente, um grupo controle livre de agentes indutores foi estabelecido. Foram avaliados a taxa de recuperação espermática, motilidade, vigor, integridade de membranas plasmática e acrossomal antes e após os tratamentos. A integridade de membranas foi avaliada pela coloração de azul tripan/Giemsa. Os resultados foram analisados por análise de variância e as médias comparadas por Student Newman Keuls. Os valores são mostrados como média±erro padrão da média.

### Resultados e Discussão

O método de Percoll recuperou mais ( $P<0,05$ ) espermatozoides ( $28,1\pm 3,3\%$ ) e com maior motilidade ( $55,5\pm 2,6\%$ ) que o Swim-up ( $2,27\pm 0,3\%$  e  $41,1\pm 5,0\%$ , respectivamente), já a taxa de recuperação foi inferior ( $P<0,05$ ) a obtida na LC ( $43,3\pm 3,8\%$ ). A taxa de vivos sem acrossoma foi maior ( $P<0,05$ ) após o Swim-up do que nos demais métodos, indicando que esse método foi influenciado pelo sêmen de diferentes machos. Houve diferença ( $P<0,05$ ) quanto à motilidade entre o grupo exposto à 100µM de NPS ( $38,3\pm 3,5\%$ ) e o exposto à heparina ( $28,1\pm 3,6\%$ ). Foi encontrado maior vigor ( $P<0,05$ ) para o grupo de 100µM de NPS em relação aos grupos controle e heparina ( $4,7\pm 0,1$ ,  $4,2\pm 0,1$  e  $4,3\pm 0,1$ , respectivamente). Não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos e após o descongelamento para o número de vivos sem acrossoma. Os resultados obtidos mostram que Percoll e LC favorecem uma maior recuperação de células com melhor viabilidade e menor perda acrossomal e as concentrações de NPS utilizadas não foram suficientes para induzir a capacitação em sêmen congelado de caprinos.

### Referências

Henkel RR, Schill WB. Sperm preparation for art. *Reprod Biol Endocrinol*, v.1, p.108-129, 2003.

**Palavras-chave:** seleção espermática, capacitação, nitroprussiato de sódio, caprinos.

**Keywords:** *sperm selection, capacitation, sodium nitroprusside, goat.*