**TEMPO DE ARMAZENAMENTO DE OVÁRIOS SUÍNOS PARA TESTE DE PENETRAÇÃO ESPERMÁTICA**

**SILVA, Alessandra Cardoso; CARDOSO, Tainã Figueiredo; SILVA, Estela Fernandes; CALDAS, Jôsie Schwartz; ALVES, Juliana do Prado; CORCINI, Carine Dahl; VARELA JUNIOR, Antonio Sergio**

**e-mail:** [**alecardososilva@hotmail.com**](mailto:alecardososilva@hotmail.com)

**Evento: XXII Congresso de Iniciação Científica**

**Área do conhecimento: Reprodução Animal**

**Palavras-chave: espermatozoide, fertilização, ovários.**

1 INTRODUÇÃO

Testes *in vitro* baseados nas interações entre gametas masculinos e femininos têm sido usados para estimar o potencial fertilizante de machos suínos, pela capacidade de tais testes fornecerem informações sobre alguns estágios do processo de fertilização. O teste de penetração oocitária *in vitro* (PIV) é eficiente para esta finalidade (Matas et al., 1996), detectando uma redução na capacidade de PIV de espermatozoides suínos emoócitos homólogos após 24h de acondicionamento, enquanto avaliações convencionais de qualidade seminal não são capazes de detectar tal redução mesmo após 72h (Macedo et al., 2006). No entanto, o teste de PIV em condições de rotina ainda tem seu uso limitado, pois sua execução exigiria a obtenção de oócitos frescos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de diferentes tempos de acondicionamento dos ovários suínos para a realização de teste de PIV.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de sêmen coletadas de três machos suínos denominados: A, B e C, diluídas em *Beltsville Thawing Solution* (BTS). Os ovários de fêmeas suínas pré-púberes foram coletados em frigorífico local e transportados a uma temperatura de 30 oC para laboratório em até 60min após o abate, em solução salina (0,9% NaCl). No laboratório, os ovários foram refrigerados a uma temperatura de – 20 oC por até 8 meses. Para as análises de PIV, os oócitos foram obtidos através da aspiração dos folículos com um sistema de vácuo. Após a recuperação do liquido folicular, o conteúdo foi transferido para uma solução de *Phosphate Buffer Saline* (PBS), para posterior seleção dos oócitos. Triplicatas de cada macho e de suas doses heterospermáticas (AB, AC e BC) foram avaliadas quando a PIV nos diferentes tratamentos: (1) oócitos frescos, (2) congelados por 1 mês, (3) congelados por 2 meses, (4) congelados por 3 meses, (5) congelados por 4 meses, (6) congelados por 5 meses, (7) congelados por 6 meses, (8) congelados por 7 meses, (9) congelados por 8 meses . Os oócitos foram encubados com os espermatozoides numa concentração de 2x106/mL, em banho-maria a 38 ºC por 2 horas em meio tris modificado (mTBM). Transcorrido o período de incubação, os oócitos foram submetidos à pipetagens para remoção de espermatozoides acessórios. A seguir, os oócitos foram tratados com o corante Hoescht 33342 (10 μg/mL) e analisados em microscopia de epifluorescência. Para cada macho, o número de oócitos penetrados e de espermatozoides por ovócitos foram contados e a taxa de penetração (TP) *in vitro* calculada pela relação entre o numero de oócitos penetrados sobre o total de oócitos encubados. As análises estatísticas foram feitas pelo *Kruskal-Wallis* no programa Statistic 9.0.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Tabela 1: Taxa de penetração espermática (TP) e número de espermatozoide por oócito (NO), em porcentagem, nos oócitos armazenados nos diferentes tempos (médias ± E.P.).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| *Tratamento* | *TP* | *NO* |
| 1 | 95.5 ± 12.2 | 9.0 ± 4.9 |
| 2 | 98.9 ± 3.6 | 10.7 ± 4.9 |
| 3 | 95.6 ± 12.8 | 9.8 ± 4.6 |
| 4 | 98.1 ± 3.4 | 8.3 ± 3.9 |
| 5 | 97.2 ± 8.6 | 9.6 ± 5.5 |
| 6 | 96.9 ± 5.7 | 8.0 ± 3.8 |
| 7 | 98.0 ± 5.7 | 10.6 ± 5.8 |
| 8 | 92.6 ± 14.6 | 8.3 ± 4.2 |
| 9 | 96.8 ± 6.9 | 8.2 ± 5.6 |

Não foram observadas diferenças significativas quanto às taxas de penetração espermática e no número de espermatozoides por oócito penetrado entre os diferentes tempos de armazenamento. Assim, com os oócitos armazenados mantiveram sua integridade estrutural similar aos oócitos frescos.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O teste de penetração *in vitro* de oócitos suínos por espermatozoides homólogos pode ser realizado com oócitos procedentes de ovários congelados por um período de até 8 meses, com resultados semelhantes aos obtidos com o uso de oócitos frescos.

REFERÊNCIAS

Macedo MC Jr., Deschamps JC, Lucia T Jr., Bordignon J, Serret CG, Rambo G, Pivato I, Schmitt E In vitro penetration of fresh and vitrified swine oocytes by homologous spermatozoa using different incubation systems**.** **Animal Reproduction Science**; v.. 92, p. 334-348, 2006**.**  .

MatAs C, Martinez E, Vazquez JM, Rota J, Gadea J. In vitro penetration assay of boar sperm fertility: effect of various factors on the penetrability of immature pig oocytes. **Theriogenology**; v. 46, p. 503-513, 1996.