

TAXA DE RECUPERAÇÃO ESPERMÁTICA UTILIZANDO OS GRADIENTES DE PERCOLL

Eduardo Fernandes Gripa, discente de Medicina Veterinária, UNIPAMPA, campus Uruguaiiana, Larissa Trindade de lima, discente de Medicina Veterinária, UNIPAMPA, campus Uruguaiiana, Rochelle Stefanny Maurante Soares, discente de Medicina Veterinária, UNIPAMPA, campus Uruguaiiana, Rafaela Dalmolin Menezes, discente de pós-graduação Profa.^a Dra. Daniela dos Santos Brum, docente, UNIPAMPA, campus Uruguaiiana, Prof. Dr. Fabio Gallas Leivas docente, Universidade Federal do Pampa, campus Uruguaiiana,

eduardogripa.aluno@unipampa.edu.br

As biotecnologias empregadas na bovinocultura estão tomando cada vez mais espaço no cenário atual. Nessa crescente temos a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e a Fertilização *in vitro* (FIV), como técnicas em expansão. A quantidade e qualidade dos espermatozoides dos touros, estão relacionadas diretamente ao sucesso do emprego dessas biotecnologias, trazendo assim como pauta a importância de técnicas para uma melhor seleção de espermatozoides viáveis. A seleção espermática por gradientes de Percoll é utilizada para uma recuperação espermática mais eficaz selecionando espermatozoides de melhor qualidade. Ele consiste na formação de um gradiente gradual, onde a densidade aumenta do sentido da camada superior para a inferior, resultando em um pellet de sêmen mais concentrado, assim sendo selecionados apenas espermatozoides viáveis para a aplicação em técnicas, projetos e pesquisas futuros, deixando no sobrenadante os restos celulares e espermatozoides inviáveis. Sabe-se que a taxa de recuperação espermática apresenta um papel fundamental em biotécnicas com FIV, pois dependendo da eficiência da técnica empregada, uma dose de sêmen pode ser utilizada para até 20 doadoras. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a taxa de recuperação espermática obtida em nosso laboratório utilizando o método de seleção por mini percoll 45-90%. Para o estudo foram realizadas 7 repetições utilizando um pool com o sêmen de 4 touros de fertilidade conhecida, onde palhetas de 0,25mL foram descongelados em banho maria a 37°C por 20", sendo a seguir o sêmen avaliado quanto a motilidade, motilidade progressiva, vigor e concentração espermática inicial. A seguir o sêmen restante (Volume inicial) 600 µL, foi dividido igualmente em 4 tubos contendo os gradientes de percoll, (400 µL de 90% + 400 µL de 45%), sendo os tubos centrifugados por 5 min a uma força de 4000 rpm (Rotações por minuto). Os pellets (100uL) resultantes foram divididos em 2 tubos cônicos contendo 300 µL de Fert TALP (37 °C), e centrifugados novamente a 4000 rpm por 1 minuto. O *pellet* resultante da segunda centrifugação (100 uL) originou o volume final que foi avaliado quanto a motilidade, motilidade progressiva, vigor e concentração espermática final. Para calcular a taxa de recuperação (TR), foi utilizada a fórmula: $TR = \left[\frac{\text{Final} \times \text{volume final}}{\text{inicial} \times \text{volume inicial}} \right] \times 100$. Os resultados na taxa de recuperação espermática, foram de 26%, 51%, 49%, 37%, 39%, 56%, 37% nas repetições de 1 a 7, respectivamente. A taxa média de recuperação espermática no experimento foi de 40,6%. Dados da literatura indicam que recuperação espermática acima de 30% já são consideradas positivas. Considerando que em 5 das 7 repetições, foi obtido uma eficiência na recuperação espermática obtendo-se uma média superior a 30%, podemos considerar que este protocolo esta bem estabelecido no laboratório, no entanto a motilidade espermática inicial, bem como a correta pipetagens nas diferentes etapas podem ser fatores responsáveis pelas oscilações e devem ser constantemente controlados.

Baseado nos resultados obtidos foi possível concluir que o método de gradientes de percol em 45 e 90% se mostrou eficiente na recuperação de espermatozoides bovinos para experimentos de reprodução assistida, pois permite a seleção de até 4 palhetas de forma simultânea, sem interferir na taxa de recuperação espermática. Esse estudo tem como intuito mostrar a importância da seleção de espermatozoides viáveis, pois a qualidade dos mesmos está diretamente ligada aos resultados que serão obtidos.

Agradecimentos: Laboratório de Biotecnologias da Reprodução (Biotech); CNPq; UNIPAMPA.

Palavras-chave: Recuperação espermática; Percoll; Espermatozoide.