



Avaliação de sêmen ovino vitrificado

Ariane Cláudia Alves da Silva, Lucio Pereira Rauber, Rodrigo Kramer Rodrigues, Maicon Gaissler Lorena Pinto

IFC Concórdia

Área: Veterinária e afins

E-mail para contato: lucio.rauber@ifc-concordia.edu.br

O sêmen ovino, por suas características celulares, tem viabilidade reduzida após o processo de congelamento convencional. A vitrificação é uma técnica de congelamento empregada em oócitos e embriões produzidos in vitro que utiliza altas concentrações de crioprotetores e alta velocidade de congelamento, visando conservar as propriedades celulares. O objetivo desse trabalho é desenvolver a vitrificação para o sêmen ovino, com o intuito de congelar o material seminal causando menores danos celulares. Foram utilizados para o experimento três carneiros da raça Lacaune, Milchschaft e ½ Lacaune ½ Milchschaft aptos à reprodução. O experimento foi realizado na EPAGRI de Lages. A coleta do sêmen foi realizada com vagina artificial, sendo coletados 09 ejaculados por carneiro, e utilizados somente aqueles com viabilidade preconizada para a espécie pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2013). Foi realizado “pool” de amostras, sendo dividido em 4 grupos. O grupo controle (GC), com congelamento convencional, foi diluído com Tris-gema e envasado em palhetas de 0,25 mL com 150.000.000 espermatozoides/dose. Estas foram resfriadas por 2 horas à +5°C, expostas ao vapor de Nitrogênio Líquido (N2L) por 2 minutos e imersas em N2L. Nos grupos testes, o sêmen foi diluído com crioprotetor extracelular conforme o tratamento, até obter uma concentração de 150.000.000 espermatozoides/mL. A solução crioprotetora foi composta por PBS suplementado com 1% de BSA e 0,1M (GT1), 0,25M (GT2) ou 0,40M (GT3) de sacarose. Uma gota de 10µL de cada tratamento foi envasada em micropipeta de vidro em dois momentos, 1 e 5 minutos de contato com o crioprotetor, sendo imersas logo após em N2L. A motilidade foi estimada antes da vitrificação, para avaliar a toxicidade do crioprotetor. O sêmen foi descongelado diretamente em 400 µL de PBS à 37°C por 10 segundos e avaliado quanto à sua motilidade e vigor. O GC, após o descongelamento, obteve uma média de motilidade de 30% e vigor 3. A solução crioprotetora teve um efeito tóxico mais elevado no grupo GT3, pois a motilidade foi zero nos tempos 1 e 5 minutos. Já no GT1 e GT2 a motilidade foi de 60% e 10% para 1 minuto e 40% e 5% para 5 minutos, respectivamente. Em ambos os tratamentos não foi possível recuperar espermatozoides viáveis após o descongelamento. O crioprotetor à 0,1M teve menor efeito tóxico aos espermatozoides, porém as diferentes concentrações de sacarose não foram eficientes em preservar a viabilidade do sêmen ovino após a vitrificação.

Palavras-chave: Biotecnologias da reprodução. Crioprotetor. Sacarose.