



## EFEITO DA REDUÇÃO DO CÁLCIO INTRACELULAR NA CAPACITAÇÃO DO SÊMEN OVINO

Aline de Oliveira Felix, Bernard Brum de Rezende, Uilian Machado, Carla Sobrinho Paes de Carvalho, Angelo José Burla Dias

A criopreservação de sêmen é uma técnica de grande interesse nas diferentes espécies, devido ao grande potencial para o melhoramento genético, assim como para a formação de bancos de germoplasma. Porém essa técnica leva a várias alterações celulares o que compromete a viabilidade dos espermatozoides. Em ovinos a indução prematura da capacitação espermática é um processo induzido pela criopreservação, o que limita o uso da técnica nessa espécie. A capacitação espermática envolve uma série de eventos bioquímicos que ocorre nos espermatozoides de mamíferos durante seu trajeto pelo sistema reprodutor feminino, que leva à reação acrossômica. Esta é resultante da fusão das membranas acrossomal externa e a membrana plasmática da região acrossomal, decorrente da organização dos filamentos de actina nessa região, num evento induzido pela elevação das concentrações intracelulares de cálcio. Nesse processo o fosfatidilinositolbifosfato ( $PIP_2$ ) atua na formação do inositoltrifosfato ( $IP_3$ ), o qual mobiliza cálcio dos estoques intracelulares. O reagente U-73122 (Sigma) inibe a hidrólise do  $PIP_2$  para  $IP_3$ , o qual leva a um decréscimo na concentração de cálcio livre no citosol. Diante do exposto o projeto tem como objetivo avaliar o efeito do U-73122 (Sigma) sobre a capacitação espermática e a congelabilidade de espermatozoides ovinos. Todas as avaliações serão realizadas com sêmen ovino previamente congelado em diluente TRIS-gema-glicerol com ou sem o U-73122. O sêmen será descongelado a 37 °C e em seguida será submetido à avaliação dos parâmetros físicos. A motilidade espermática será avaliada pelo sistema computadorizado acoplado a um microscópio óptico, sob um aumento de 100x. Serão analisados no mínimo cinco campos para leitura e análise. As características analisadas serão motilidade total e progressiva, espermatozoides com movimentos rápidos, médios, lentos e estáticos. A integridade das membranas plasmática e acrossomal serão analisadas através de sondas fluorescentes como o iodeto de propídio (PI) e aglutinina de *Pisum sativum* conjugada a isotiocionato de fluoresceína (PSA-FITC). Será feita a análise de variância para verificar o efeito do tratamento (PROC GLM, SAS) e o teste de médias (teste “t” ao nível de 5% de probabilidade).

Palavras-chave:  $IP_3$ , Capacitação espermática, Criopreservação.

Instituição de fomento: FAPERJ