



A INFLUÊNCIA DA TÉCNICA DE SEPARAÇÃO DO PLASMA SEMINAL NA INTEGRIDADE DA MEMBRANA ESPERMÁTICA DE SUÍNO: resultados preliminares

Ana Beatriz Marques de Almeida¹, Carlos Augusto Melanda¹, Myrian Megumy Tsunokawa Hidalgo¹, Anne Kemmer Souza¹, Luiz Guilherme Corsi Trautwein¹, Maria Isabel Mello Martins¹

Informações do autor principal: ¹UEL – Universidade Estadual de Londrina, biamarquesvet30@gmail.com

O plasma seminal possui substâncias e funções que podem interferir no armazenamento dos espermatozoides, ou seja, na refrigeração do sêmen. Por isso se faz necessária a separação do plasma seminal, por meio de centrifugação ou filtração do ejaculado, no processo de preservação dos espermatozoides. Embora a centrifugação seja a técnica mais utilizada, tem sido relacionada com lesões na membrana espermática, que interferem na capacidade de penetração dos espermatozoides nos oócitos. A filtração tem se apresentado como uma técnica alternativa para diminuir os danos na membrana plasmática causados na separação do plasma seminal. Objetivou-se avaliar a integridade de membrana espermática de suíno a fresco, 24 horas e 48 horas pós-refrigeração, em amostras que foram submetidas à separação de plasma seminal pela centrifugação ou filtração com *Sperm-filter*®. Uma amostra de sêmen de suíno da raça Landrace de uma granja no município de Ibiporã, Paraná, Brasil, imediatamente após a colheita foi diluída 1:1 em meio *Beltsville Thawing Solution* (BTS) e transportada em caixa térmica na temperatura de 37°C até ao laboratório Reproa/ Uel. Foram utilizados dois métodos de separação de plasma seminal: centrifugação por 10 minutos a 600G; e filtração no *Sperm-filter*®. Ambas as amostras foram ressuspensas em meio BTS, em uma concentração espermática final de 10×10^6 /mL e aliqüotadas em amostras de 1,5mL e submetidas a refrigeração a 17°C por até 48 horas. As avaliações de integridade da membrana espermática foram realizadas nas amostras com o plasma seminal (G1), centrifugado (G2) e filtrado (G3) em três momentos: a fresco, refrigeradas a 17°C por 24 horas e por 48 horas. As análises foram realizadas em esfregaços, em lâmina de vidro, com 3µL de sêmen acrescidos de 3µL do corante eosina-nigrosina (BotuVITAL®, Botupharma, Botucatu - SP). Foram avaliados 100 espermatozoides por lâmina, em microscopia de luz sob aumento de 1.000x. Os espermatozoides foram considerados com membrana íntegra, quando estavam translúcidos, e considerados lesados, quando possuíam a cabeça com a coloração rósea. Os resultados foram expressos em porcentagem. No momento a fresco, no G1 foi observado 6% de células lesadas, no G2 15% e no G3 14%. Após 24 horas de refrigeração a lesão de membrana em G1 se manteve em 6%, enquanto que o G2 apresentou 22% e o G3 13%. Depois de 48 horas de refrigeração, o G1 apresentou 4%, o G2 21%, e no G3 11% dos espermatozoides tiveram lesão de membrana. Baseado nos resultados obtidos, e nos dados de literatura, o processo de remoção do plasma seminal promove lesões na membrana espermática, entretanto, aparentemente a separação pela filtração com o uso do *Sperm-filter*® promoveu menores porcentagens de lesões à membrana plasmática dos espermatozoides de suínos refrigerados por até 48 horas.

Palavras-chave: Centrifugação. Espermatozoides. *Sperm filter*®.