

EFEITO DO PROCESSO DE SEXAGEM DE SÊMEN POR CITOMETRIA DE FLUXO SOBRE A ESTABILIDADE DE CROMATINA DE ESPERMATOZÓIDES BOVINOS

OLIVEIRA, K. M.; SAMPAIO, G. S. L.; PINTO, D. A.; DINIZ, E. G.; BELETTI, M. E.

A citometria de fluxo possibilitou a sexagem de espermatozóides bovinos em escala comercial, tornando-se mais uma ferramenta para o avanço da pecuária. Contudo, durante a sexagem os espermatozóides são submetidos a processos químicos e físicos, o que provavelmente poderia desencadear alterações na estabilidade da cromatina espermática. Este trabalho teve como objetivo estudar a estabilidade da cromatina de espermatozóides bovinos em sêmen sexado. Foram usados esfregaços de sêmen de 15 touros mantidos em sistema de coleta em uma central de tecnologia de sêmen. Um esfregaço de sêmen in natura de cada touro foi confeccionado logo após a aprovação do ejaculado para o processo de sexagem e outro esfregaço de sêmen sexado logo após o descongelamento do do mesmo ejaculado já sexado. Os esfregaços foram fixados em solução de etanol e ácido acético, hidrolisados em HCl 4N, lavados e secos a temperatura ambiente. Posteriormente, foram corados com uma gota de Azul de Toluidina 0,025% em tampão McIllyaine pH 4,0 e cobertos com lamínula. Foram obtidas 100 imagens digitais em tons de cinza de cada lâmina a partir de microscopia de luz em objetiva de 100x, das quais foram segmentadas 100 cabeças de cada lâmina. Estas foram processadas por programas desenvolvidos em ambiente Scilab com objetivo de se obter a média e desvio padrão dos valores de pixel dentro de cada cabeça de espermatozóide. Para referencia da coloração normal, foram selecionados por análise visual seis cabeças por esfregaço. Para cada cabeça analisada, a diferença entre a média dos valores das cabeças padrões e da analisada foi transformada em porcentagem (Dif%) e o coeficiente de variação dos valores de pixel foi calculado (CV). Os esfregaços in natura apresentaram DIF% de $0,935 \pm 0,25$ e os sexados $1,29 \pm 0,58$ e o CV de $3,25 \pm 0,58$ e $3,76 \pm 1,31$ respectivamente. Para ambas variáveis a diferença entre in natura e sexado foi significativa estatisticamente. Esta diferença demonstra que o processo de sexagem afeta a compactação da cromatina dos espermatozóides, no entanto, a intensidade de descompactação é semelhante a encontrada na literatura para touros altamente férteis. Isto demonstra que estas alterações provavelmente não influenciam na fertilidade. Pode-se concluir que a cromatina espermática, durante o processo de sexagem por citometria de fluxo, não sofre alterações que possam interferir na fertilidade do touro.