

**MOTILIDADE ESPERMÁTICA DE PACU, *Piaractus mesopotamicus*, UTILIZANDO
DIFERENTES AÇÚCARES NA CRIOPRESERVAÇÃO SEMINAL**

**MARTINS, Diego, PEREIRA, Fernanda Alves, SILVA, Alessandra Cardoso, PEREIRA,
Jéssica Ribeiro, GHELLER, Stela Mari Meneguello, ESQUIVEL FILHO, Juan, SREIT
JUNIOR, Danilo, CORCINI, Carine Dahl,
VARELA JUNIOR, Antonio Sergio (orientador)
martins_sg@yahoo.com.br**

**Evento: Encontro de Pós-Graduação
Área do conhecimento: Ciências biológicas**

Palavras-chave: peixe, sêmen, crioprotetores.

1 INTRODUÇÃO

A criopreservação de espermatozóides é uma técnica simples, porém importante para a conservação das espécies, como forma de preservação da biodiversidade. No entanto, estas células congeladas podem ser danificadas pela toxicidade de crioprotetores, resultando em danos que nem sempre são ultra-estruturais, podendo ser expressos em várias fases, tais como a motilidade do espermatozóide e fertilização. Assim, os crioprotetores têm sido amplamente utilizados nos protocolos de congelamento de sêmen, pois reduzem a temperatura de congelamento da célula, impedindo a formação de cristais de gelo intra e extracelular. A associação de crioprotetor penetrante com não penetrantes (açúcar ou proteína), pode melhorar a motilidade do espermatozóide e por sua vez a fertilização. Devido às características do sêmen variarem entre as espécies, o desenvolvimento desses protocolos torna-se muito mais exigido para a criopreservação de sêmen de espécies específicas. Desta forma, o objetivo do trabalho é avaliar o efeito dos crioprotetores não penetrantes: trealose, rafinose, sacarose e lactose nas concentrações de 50mM, 100mM, e 150mM sobre as células espermáticas da espécie *Piaractus mesopotamicus*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Alguns autores afirmam que os crioprotetores não penetrantes, como os açúcares, são de extrema importância no congelamento e descongelamento de espermatozóides (SILVA et al, 2015), sendo benéfico em muitas espécies, como o carneiro (AISEN et al 1995), cabra (ABOAGLA & TERADA, 2003) e touro (FOOTE et al, 1993). Entre os dissacarídeos utilizados como não penetrante, destaca-se a utilização de sacarose como um crioprotetor mais efetivo (MOCE e VICENTE, 2009), no entanto, Piassi et al (2009) destaca Lactose e Sacarose como crioprotetores eficazes ao espermatozóide, sendo viáveis ao espermatozóide após congelamento.

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Foram utilizados 14 machos da Piscicultura Panamá. O sêmen foi coletado por massagem abdominal, e só amostras acima de 80% de motilidade foram congeladas. Após foram adicionado ao diluente BTS (Pursel & Johnson 1975), contendo o crioprotetor penetrante dimetilsulfóxido 10% e os diferentes crioprotetores não penetrantes: trealose, rafinose, sacarose e lactose nas concentrações 50mM, 100mM, e 150mM. As amostras foram envasadas, após 20min colocadas em botijão Dryshipper (-70°C) por 12 horas e transferidas para botijão de nitrogênio líquido (-196°C). As palhetas foram descongeladas

em banho-maria a 45°C por 8 segundos e analisada movimentação celular (motilidade e tempo de motilidade) pelo Computer Assisted Semen Analysis (CASA), usando o software Sperm Vision® (Minitube).

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Com base nos resultados (Tabela 1), a Sacarose 150mM obteve 34,5% percentual de motilidade total, indicando o melhor desempenho comparado aos demais tratamentos. A partir da avaliação de motilidade progressiva, os espermatozóides caracterizados movimento contínuo para frente, o açúcar Sacarose como melhor tratamento (24,4%). Quanto a avaliação do tempo de motilidade, as concentrações de 100mM de Rafinose e Lactose (46,6 e 46,7), juntamente com 50mM de Trealose (50,1), obtiveram maior porcentagem de tempo, significando melhor motilidade do espermatozóide.

Tabela 1- Desempenho de motilidade (total e progressiva) e seu tempo, a partir das diferentes concentrações dos açúcares.

AÇUCAR	%	MOTILIDADE TOTAL	MOTILIDADE. PROGRESSIVA	TEMPO DE MOTILIDADE
CONTROLE	0	26.2 ± 2.9 ^b	18.9 ± 2.6 ^b	32.6 ± 5.7 ^{ab}
TREALOSE	50	26.9 ± 1.7 ^b	18.7 ± 1.6 ^b	50.1 ± 5.9 ^a
	100	27.8 ± 2.2 ^b	19.2 ± 2.0 ^b	43.8 ± 6.0 ^{ab}
	150	23.3 ± 1.9 ^{bc}	15.4 ± 1.9 ^{bc}	40.5 ± 6.6 ^{ab}
RAFINOSE	50	23.0 ± 1.4 ^{bc}	14.7 ± 1.3 ^{bcd}	45.0 ± 7.1 ^{ab}
	100	26.0 ± 1.9 ^b	16.8 ± 1.8 ^{bc}	46.7 ± 6.0 ^a
	150	18.0 ± 1.6 ^c	9.9 ± 1.4 ^d	38.3 ± 7.6 ^{ab}
SACAROSE	50	25.4 ± 1.7 ^b	16.8 ± 1.6 ^{bc}	37.7 ± 6.2 ^{ab}
	100	25.5 ± 2.0 ^b	16.7 ± 1.8 ^{bc}	40.7 ± 5.3 ^{ab}
	150	34.5 ± 2.3 ^a	24.4 ± 2.3 ^a	33.9 ± 7.1 ^{ab}
LACTOSE	50	23.1 ± 2.5 ^{bc}	15.6 ± 2.0 ^{bc}	38.4 ± 7.7 ^{ab}
	100	19.1 ± 2.3 ^c	11.5 ± 2.0 ^{cd}	46.6 ± 6.8 ^a
	150	23.7 ± 1.7 ^{bc}	15.3 ± 1.4 ^{bc}	27.0 ± 5.8 ^b

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A sacarose adicionado em concentração de 150 mM na solução diluidora, foi o dissacarídeo que promoveu melhor desempenho de motilidade total e progressiva, além de seu tempo, nas células descongeladas de Pacu.

REFERÊNCIAS

- Aboagla, E. M.; Terada, T., 2003. Trehalose-enhanced fluidity of the goat sperm membrane and its protection during freezing. *Biology of Reproduction* 69: 1245-50.
- Aisen, E.; Álvarez, H.; Venturino, A.; Larreguy, D.; Garde, J.; Vazquez, I., 1995. Efecto comparativo de los diluyos conservadores de diferente composición y tonicidad sobre la criopreservación de semen ovino. *Investigación Agraria: Producción y Sanidad Animal*. 10: 223-31.
- Foot, R.; Chen, Y.; Brockett, C.; Kaproth, M., 1993. Fertility of bull spermatozoa frozen in whole milk extender with trehalose, taurine, or blood serum. *Journal of dairy science* 76 : 1908-13.
- Mocé, E.; Vicente, J.S. 2009. Rabbit sperm cryopreservation: a review. *Anim. Reprod. Sci.* v.110, p.1–24.