

**FLUIDEZ E INTEGRIDADE DE MEMBRANA PLASMÁTICA DE
ESPERMATOZÓIDES DE PACU, *Piaractus mesopotamicus*,
CRIOPRESERVADOS COM DIFERENTES AÇÚCARES**

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

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

Palavras-chave: sacarose, peixe, citometria de fluxo.

1 INTRODUÇÃO

O pacu é uma espécie reofílica, e é amplamente explorada. Além disso, está sofrendo perdas na diversidade genética, devido a ação antrópica pela construção de barragens que mudam o curso dos rios, prejudicando sua reprodução. A criopreservação seminal é uma ótima ferramenta para recuperação da espécie para desenvolvimento de protocolos de congelamento e criação de bancos de germoplasma. Entretanto, devido ao choque térmico o congelamento pode acarretar prejuízos nas estruturas celulares. Os protocolos de congelamento utilizam crioprotetores permeáveis e não permeáveis com intuito de minimizar os possíveis danos às células espermáticas. Dessa forma, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito dos crioprotetores não penetrantes trealose, rafinose, lactose e sacarose nas concentrações de 50 mM, 100 mM e 150 mM sob as células espermáticas de Pacu através das análises de Integridade e Fluidez de Membrana plasmática.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Diversos estudos utilizando crioprotetores não penetrantes mostram que açúcares dissacarídeos protegem a membrana celular a partir do volume celular no congelamento e descongelamento. O efeito benéfico no congelamento seminal de diferentes espécies como carneiro (Aisen et al 1995), cabra (Aboagla & Terada, 2003) e touro (Foote et al 1993) .

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Foram utilizados 14 machos da Piscicultura Panamá. O semen 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 analisadas Integridade e Fluidez de membrana por Citometria de fluxo Attune (Life Technologies - USA).

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Com base nos resultados (Tabela1) a sacarose 150 mM (68%) e lactose 50 mM (53%) obtiveram melhor resultado para fluidez de membrana quando comparado aos demais açúcares. Na integridade de membrana o dissacarídeo sacarose 150 mM (55%) foi diferente estatisticamente dos demais tratamentos com 55% de membranas integras.

As concentrações de 50 e 150 mM de Sacarose apresentaram melhor eficácia de crioproteção na membrana plasmática, pois estabiliza os fosfolípidos e conserva a sua permeabilidade seletiva. Além disso, os dissacarídeos minimizam os danos como cristais de gelo por manter a pressão osmótica, contribuindo para a desidratação celular.

Tabela 1- Influência de trealose, rafinose, sacarose e lactose em suas diferentes concentrações relacionados aos parâmetros da célula espermática analisados.

Açúcar	%	Fluidez	Membrana
Controle	0	64.5 ± 4.7 ^{ab}	49.2 ± 2.8 ^{abcd}
Trealose	50	62.4 ± 3.3 ^{abc}	54.6 ± 2.1 ^a
	100	60.0 ± 3.7 ^{abc}	50.0 ± 3.4 ^{abc}
	150	63.5 ± 3.9 ^{abc}	52.1 ± 3.2 ^{ab}
Rafinose	50	63.7 ± 2.8 ^{abc}	49.6 ± 2.6 ^{abcd}
	100	62.3 ± 3.7 ^{abc}	46.2 ± 2.9 ^{bcd}
	150	59.2 ± 3.4 ^{abc}	42.6 ± 3.7 ^{cd}
Sacarose	50	57.6 ± 3.7 ^{bc}	42.2 ± 2.9 ^d
	100	60.8 ± 3.6 ^{abc}	42.3 ± 2.6 ^d
	150	68.0 ± 3.7 ^a	55.7 ± 1.9 ^a
Lactose	50	53.4 ± 4.1 ^c	44.5 ± 2.8 ^{bcd}
	100	58.8 ± 4.0 ^{abc}	45.2 ± 2.6 ^{bcd}
	150	56.7 ± 3.7 ^{bc}	48.3 ± 2.4 ^{abcd}

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desse estudo mostram que o dissacarídeo sacarose é eficaz na proteção das membranas celulares de espermatozoides criopreservados 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.

Pursel, V.G., Johnson, L.A., 1975. Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. *Journal of Animal Science* 40: 99-102.