

**TREALOSE, RAFINOSE, SACAROSE E LACTOSE NA CRIOPRESERVAÇÃO
ESPERMÁTICA DO PACU, *Piaractus mesopotamicus*, AVALIANDO
INTEGRIDADE DE DNA E MITOCÔNDRIA**

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

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

Palavras-chave: crioprotetor não penetrante; peixe; protocolo.

1 INTRODUÇÃO

A criopreservação facilita a reprodução animal e possibilita a criação de bancos de germoplasma. Necessitando de protocolos específicos devido as características do sêmen variarem entre as espécies, padronizando assim diluentes e crioprotetores mais eficazes para a espécie em questão. O Pacu, *Piaractus mesopotamicus*, é um peixe de grande aceitação na piscicultura brasileira, porém ainda não possui protocolo para criopreservação.

Desta forma, o objetivo do trabalho é avaliar o efeito dos crioprotetores não penetrantes: trealose, rafinose, sacarose e lactose nas concentrações de 50mM, 100 mM, e 150 mM sobre as células espermáticas de *P. mesopotamicus* avaliando a integridade de DNA e de mitocôndria a fim de estabelecer um protocolo para a espécie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A criopreservação conserva células biológicas em nitrogênio líquido (-196°C) por tempo indeterminado (Pegg, 2007), reduzindo o metabolismo ao ser congelada, e restabelecendo-o ao normal após o descongelamento (Rubinsky, 2003). Envolvendo a diluição do sêmen em uma solução crioprotetora (diluyente, crioprotetor penetrante e o crioprotetor não penetrante). Os danos oriundos do congelamento são minimizados pela ação dos crioprotetores.

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Foram coletados sêmens de 14 machos na Piscicultura Panamá. O sêmen foi adicionado em BTS, segundo Pursel & Johnson (1975), contendo o crioprotetor penetrante dimetilsulfóxido 10% e os diferentes tratamentos de crioprotetores não penetrantes: trealose, rafinose, sacarose e lactose nas concentrações de 50 mM, 100 mM, e 150 mM. As amostras analisadas através da citometria de fluxo Attune (Life Technologies - USA) utilizando os fluoróforos Acridine Orange (Bencharif *et al.*, 2010) e Rhodamine 123 (He & Woods, 2004).

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Com base nos resultados (Tabela 1), os tratamentos com concentração de 50, 100 e 150 mM de sacarose estão entre os melhores resultados obtidos na avaliação da funcionalidade mitocondrial.

Referente ao índice de fragmentação do DNA, os tratamentos tiveram porcentagens variando entre 94,2 a 97,3%, não diferindo entre si.

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

Açúcar	%	DNA	Mitocôndria
Controle	0	96.5 ± 0.3 ^a	70.6 ± 4.1 ^{bcd}
Trealose	50	95.5 ± 0.6 ^a	77.5 ± 3.5 ^{abc}
	100	95.6 ± 0.6 ^a	74.4 ± 2.8 ^{abcd}
	150	97.4 ± 0.2 ^a	73.6 ± 3.8 ^{abcd}
Rafinose	50	97.3 ± 0.1 ^a	72.6 ± 2.3 ^{abcd}
	100	96.6 ± 0.2 ^a	69.2 ± 3.7 ^{cd}
	150	95.8 ± 0.3 ^a	65.7 ± 4.0 ^d
Sacarose	50	96.1 ± 0.4 ^a	81.8 ± 2.8 ^a
	100	95.2 ± 0.5 ^a	79.4 ± 3.0 ^{ab}
	150	94.2 ± 0.6 ^a	82.0 ± 3.5 ^a
Lactose	50	96.5 ± 0.5 ^a	75.4 ± 3.6 ^{abcd}
	100	94.5 ± 0.1 ^a	77.8 ± 4.3 ^{abc}
	150	95.8 ± 0.4 ^a	73.7 ± 3.4 ^{abcd}

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluindo que as concentrações de 50 e 150 mM de Sacarose, destacam-se em apresentar melhor eficácia de crioproteção.

REFERÊNCIAS

BENCHARIF, D, L AMIRAT, O PASCAL, M ANTON, E SCHMITT, S DESHERCES, S., Delhomme, G. M-L LANGLOIS, M-L., P BARRIERE, P, M LARRAT & D TAINURIER. 2010. The Advantages of Combining Low-Density Lipoproteins with Glutamine for Cryopreservation of Canine Semen. *Reproduction in domestic animals*. 45: 189-200.

HE, S & Woods, LC. 2004. Effects of dimethyl sulfoxide and glycine on cryopreservation induced damage of plasma membrane and mitochondria to striped bass (*Morone saxatilis*) sperm. *Cryobiology*. 48: 254–262.

PEGG, DE. 2007. Principles of Cryopreservation. In: Day, J.G., Stacey, G.N., (Ed). *Methods in molecular biology: Cryopreservation and freeze-drying protocols*. 2ed. Humana Press. Totowa, NJ, 368: 39-58.

PURSEL, VG & JOHNSON, LA. 1975. Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing, capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. *Journal of Animal Science* 40: 99-102.

RUBINSKY, B. 2003. Principles of Low Temperature Cell Preservation. *Heart Failure Reviews* 8: 277–284.