

ANÁLISE DA VITALIDADE DO SÊMEN CRIOPRESEVADO DE TAMBAQUI POR MEIO DO MÉTODO EOSINA-NIGROSINA

Mayara Setúbal Oliveira¹, Renata Vieira do Nascimento¹, João Paulo Silva Pinheiro¹, Mônica Aline Parente Melo-Maciel¹, Marcelo José Ascensão Feitosa Vieira², Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley¹

¹Universidade Estadual do Ceará – Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes – LBRP

²Departamento Nacional de Obras Contra as Secas – DNOCS

E-mail: sandra.salmito@uece.br;

Para o sucesso da reprodução assistida de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em cativeiro é fundamental a manutenção da qualidade espermática, mesmo após o emprego de novas tecnologias, como a criopreservação de sêmen. Assim, a análise da qualidade seminal torna-se necessária, podendo ser estimada por meio da análise de parâmetros tais como: motilidade, vitalidade, anormalidades morfológicas, entre outros. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a integridade de membrana dos espermatozoides de *C. macropomum* criopreservado em duas soluções diluidoras, por meio do método de coloração com eosina-nigrosina.

Utilizou-se seis machos adultos de tambaqui que foram induzidos a espermição com extrato hipofisário de carpa comum (2,5 mg/Kg⁻¹). A coleta dos gametas foi realizada 14 horas depois e posteriormente foi iniciado o processo de criopreservação, utilizando os diluidores Glicose 5% + Dimetilsufóxido (DMSO) e *Beeltsville Thawing Solution* (BTS) + DMSO (taxa de diluição 1:9). Depois, o sêmen foi envasado em palhetas de 250 µL e colocadas no *Dry shipper*, onde permaneceram por 15 minutos e depois transferidas para o botijão de estocagem. Passados sete dias, o sêmen foi descongelado a 45 °C por 8 s em banho-maria e foi realizada a coloração pelo método de eosina-nigrosina (adaptado de Blom, 1950), utilizando-se 10 µL de sêmen, 10 µL de eosina e 10 µL de nigrosina. Foram analisados 200 espermatozoides/lâmina com o auxílio do programa SCA (*Sperm Class Analyser*) no módulo “Contador” em microscópio de contraste de fase com aumento de 400x, onde foram considerados mortos os espermatozoides corados em rosa e vivos os incolores. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética Para Uso de Animais com o processo n° 09144388-1. Os dados foram analisados por ANOVA seguidos pelo Teste Tukey (p>0,05) usando o programa ASSISTAT versão 7.7.beta (2012).

No presente estudo, a taxa de espermatozoides vivos não variou entre os tratamentos Glicose + DMSO e BTS + DMSO (tabela 01). Apesar da taxa de espermatozoides íntegros ter decaído em ambos, o diluidor BTS + DMSO tendeu a uma melhor taxa de espermatozoides vivos. Essa maior integridade se deve ao processo de resposta das células à pressão osmótica durante a congelação celular, onde o BTS pode ter conferido maior proteção aos espermatozoides que a Glicose. Conclui-se que a análise da vitalidade pelo método de coloração eosina-nigrosina pode ser utilizada como uma forma a mais de se inferir a qualidade seminal de tambaqui pós-descongelação e demonstrou ser mais adequada a utilização da associação de BTS + DMSO, para a criopreservação do sêmen da espécie.

Tabela 01. Avaliação dos espermatozoides vivos do sêmen criopreservado de tambaqui em dois diluidores

Tratamentos	% de sptz vivos
Glicose + DMSO	21,08 ± 7,71
BTS + DMSO	29,50 ± 12,61