

EFEITO DE DILUIDORES SOBRE A VITALIDADE DO SÊMEN CRIOPRESERVADO DE *Prochilodus brevis*

Larissa Teixeira Nunes^{1*}, Renata Vieira do Nascimento¹, Yasmim Maia Ferreira¹, Maria Eduarda Magalhães de Souza¹, Jordana Sampaio Leite¹ e Carminda Sandra Brito Salmito Vanderley¹.

¹ Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes - UECE

E-mail: sandra.salmito@uece.br

A curimatã comum, *Prochilodus brevis*, é um peixe migratório da região Nordeste que tem sido ameaçada por fatores como a construção de barragens e pesca predatória. Medidas têm sido tomadas a fim de contornar essa situação, como por exemplo a criopreservação seminal. Contudo, é preciso avaliar a qualidade do sêmen pós descongelado. Atualmente, o parâmetro mais utilizado na avaliação da qualidade seminal é a motilidade, no entanto, a análise de outros parâmetros pode proporcionar resultados mais fidedignos, como a estimativa do percentual de células com membrana íntegra. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar integridade de membrana dos espermatozoides de *P. brevis* criopreservados com os diluidores NaCl 0,9% + metilglicol (MG) e NaCl 0,9% + dimetilsufóxido (DMSO) pelo método de eosina-nigrosina.

Para isso, o sêmen de 10 animais foi coletado 18 horas após a indução hormonal aplicando-se dose única (3 mg.Kg⁻¹ peso vivo) de extrato hipofisário de carpa comum (EHC) por via intracelomática. Cada exemplar de *P. brevis* foi sedado e, em seguida, a coleta foi realizada. O sêmen foi liberado por meio de leve massagem na região abdominal no sentido anteroposterior, as amostras foram coletadas em tubos graduados e mantidas em caixa térmica até o processamento. Uma alíquota foi destinada à análise objetiva, estimando a porcentagem de células móveis. Foram selecionadas aquelas, que não apresentaram auto ativação e motilidade superior a 85% após ativação com água do tanque. Para a criopreservação, o sêmen foi diluído em NaCl 0,9% + metilglicol ou em NaCl 0,9% + DMSO, envasado em palhetas de 0,25 mL e congelado em vapor de nitrogênio líquido.

O sêmen foi descongelado após 15 dias em banho-maria a 25 °C por 30 segundos e corado com eosina-nigrosina. O protocolo de coloração consistiu na mistura de 5 µL de sêmen, de cada animal, a 10 µL de eosina amarela e 10 µL de nigrosina. Em seguida foi confeccionado um esfregaço com 10 µL dessa mistura e foram observados 200 espermatozoides por lâmina em microscópio de contraste de fase (aumento de 200x). O espermatozoide foi considerado vivo quando apresentou cabeça não corada ou corada em rosa claro, indicando que permaneceu com a membrana intacta e morto com cabeça fortemente corada em vermelho, indicando ruptura na membrana plasmática. Para a análise estatística, os dados foram expressos como média ± desvio padrão e analisados por meio de análise de variância seguido pelo teste t de Student (p<0,05) utilizando o programa estatístico ASSISTAT[®] versão 7.7 beta (2014).

A taxa de espermatozoides com membrana íntegra encontrada no sêmen criopreservado em meio contendo NaCl 0,9% + metilglicol foi de 39,7 ± 14,2 e em NaCl + DMSO de 43 ± 17,6, não havendo diferença estatística entre os tratamentos. Esses resultados mostram que apesar da taxa de espermatozoides vivos ter decaído, os dois meios proporcionaram proteção à membrana do espermatozoide, evitando a sua ruptura.

Diante disso, conclui-se que, nas condições em que tal trabalho foi executado, o sêmen de curimatã comum pode ser criopreservado em ambas soluções diluidoras, já que promoveu a proteção a membrana celular.