

Determinação da dose inseminante de sêmen criopreservado para fertilização artificial de tambaqui *Colossoma macropomum*

Autor(es):

Lucas Simon Torati (Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas-TO), Julia Trugilio Lopes (Instituto Federal do Tocantins, Pedro Afonso-TO), Geovana de Souza Andrade (Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas-TO), Luciana Cristine Vasques Villela (Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas-TO), Luciana Nakaghi Ganeco Kirschnik (Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas-TO)

Resumo do Tema:

Existem protocolos atualmente empregados para o congelamento de sêmen do tambaqui *Colossoma macropomum*, entretanto a dose inseminante com sêmen descongelado não foi ainda determinada. Neste estudo, testamos as doses inseminantes de 174885:1(T1), 524654:1(T2), 874423:1(T3), 1224192:1(T4), 1573962:1(T5), 1923731:1(T6) (espermatozóide:ovócito). Para isso, cinco machos de tambaquis adultos foram selecionados e induzidos com Extrato Bruto de Hipófise-EBH (2,5 mg.Kg-1 em dose única). Após aproximadamente 250 Horas-grau, o sêmen foi coletado, sua inativação avaliada em microscópio, e um pool contendo 1 mL de sêmen inativado de cada macho preparado para congelamento. Amostras do pool foram coletadas para cálculo da concentração espermática e de parâmetros de qualidade (motilidade, morfologia, integridade de membrana). Para congelamento, o sêmen foi diluído na proporção 1:9 (sêmen:diluidores) de acordo com o protocolo de Maria et al. (2011), envasado em palhetas de 0,5 mL, pré congelado em botijão de vapor de nitrogênio e então armazenados em nitrogênio líquido. A concentração espermática do pool de sêmen pré congelamento foi de $1,41 \times 10^9$ espermatozoides.mL-1. Uma semana após o congelamento, o experimento de fertilização foi realizado. Para isso, uma fêmea madura foi selecionada, induzida com protocolo de EBH (0,5 e 5,0 mg.kg-1, 12 horas de espaçamento), e os ovócitos coletados por meio de extrusão abdominal após 280 Horas-Grau. Para fertilização, as palhetas foram descongeladas em banho-maria a 50°C por 10 segundos e o conteúdo imediatamente aliqotado para fertilização de 0,6 mL (686±9;) de ovócitos com volume de sêmen suficiente para obtenção dos tratamentos mencionados. Sêmen fresco de um macho também foi usado para fertilização de um grupo controle, usando-se a dose inseminante de sêmen fresco indicada para a espécie. Após a mistura do sêmen com os ovócitos, utilizou-se 10mL de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) para promover a ativação espermática. Cada tratamento e grupo controle foi avaliado em triplicata. Em seguida, os ovos fertilizados foram incubados em peneiras (20 cm de diâmetro) alocadas em sete incubadoras de 200 L abastecidas por sistema da circulação de água. O desenvolvimento dos embriões foi avaliado entre 6 e 7 horas após a fertilização (fechamento do blastóporo), quando foi calculada a taxa de fertilização (3 réplicas por tratamento). Observou-se que o incremento de espermatozoides por ovócito resultou em elevação nas taxas de fertilização de T1 (4,45%) a T2 (21,70%), e T3(25,18%), estabilizando-se nos tratamentos subsequentes: T4 (25,18%), T5 (24,32%) e T6 (25,16%) e indicando uma dose inseminante de 875.000 espermatozoides:ovócito para a espécie usando os protocolos aqui avaliados.