

Avaliação de criotubos na criopreservação do sêmen de tambaqui

Allan Charles Marques de Carvalho*, Jadson Pinheiro Santos¹, Rafael Venâncio de Araújo², Hymerson Costa Azevedo², Paulo César Falanghe Carneiro², Alexandre Nizio Maria².

*Mestrando em Zootecnia pela Universidade Federal de Sergipe, Av. Marechal Rondon, s/n; 49.000-100 - São Cristóvão - SE; allancmc@hotmail.com; São Cristóvão, SE; ¹Mestrando em Biotecnologia pela Universidade Federal de Sergipe; ²Pesquisador Científico, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE

Nos últimos anos a Embrapa Tabuleiros Costeiros vem realizando vários estudos para determinar um protocolo adequado de criopreservação do sêmen de tambaqui *Colossoma macropomum* em palhetas de 0,5 mL, visando à formação de um banco de germoplasma e otimizando a fertilização artificial de ovócitos em pequena escala. Essa técnica, no entanto, apresenta algumas limitações quanto à sua utilização para a produção de alevinos em larga escala, necessitando ainda a determinação de metodologias para o armazenamento de sêmen em criotubos com grande capacidade de armazenamento. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de diferentes criotubos na qualidade do sêmen de tambaqui criopreservado. Oito machos adultos foram selecionados e induzidos com 2 mg de extrato bruto de hipófise kg^{-1} em dose única. Aproximadamente 10 h após a indução, o sêmen foi coletado por massagem abdominal, sendo as amostras com motilidade espermática acima de 80 % utilizadas no experimento. Amostras de sêmen de cada machos foi adicionada ao meio diluidor (glicose 5 %, metilglicol e gema de ovo) na proporção 1:9 (sêmen:diluidor), envasada em criotubos de 1,6 mL e 5,0 mL e criopreservado em vapor de nitrogênio líquido em botijão dry shipper. Após 24 h as amostras foram transferidas para o botijão de nitrogênio líquido e quatro meses depois descongeladas em banho-maria a 60°C por 90 segundos. A cinética espermática foi avaliada por meio de um sistema computadorizado de análise espermática (Sperm Class Analyser®). Para isso, alíquotas de sêmen descongelado foram ativadas com solução de NaHCO_3 125 mM e posteriormente transferida para uma câmara Makler® previamente posicionada no microscópio, sendo todo o processo, desde a ativação até o início da avaliação, realizado em até 10 segundos. Foram avaliados os seguintes parâmetros: motilidade total (MT; %), motilidade progressiva (MP; %), velocidade curvilínea (VCL; $\mu\text{m s}^{-1}$), velocidade linear progressiva (VSL; $\mu\text{m s}^{-1}$) e velocidade média da trajetória (VAP; $\mu\text{m s}^{-1}$). Para as análises da viabilidade espermática (VIAB) as amostras de sêmen foram incubadas com fluorocromos e analisadas em microscópio de epifluorescência. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste F a 5 % de significância, por meio do programa SISVAR®. Entre todos os parâmetros de qualidade espermática apenas a MP e VAP apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras congeladas nos criotubos de 1,6 mL (27% e $80 \mu\text{m s}^{-1}$) e 5,0 mL (19% e $72 \mu\text{m s}^{-1}$). Para os demais parâmetros, MT, VCL, VSL e VIAB não foram observadas diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras congeladas nos criotubos de 1,6 e 5,0 mL (50 % vs 45 %; $90 \mu\text{m s}^{-1}$ vs $83 \mu\text{m s}^{-1}$; $61 \mu\text{m s}^{-1}$ vs $58 \mu\text{m s}^{-1}$; 52 % vs 57 %). Os resultados do presente estudo, e de estudos prévios com palhetas de 0,5 mL (MT 52 ± 7 %; VIAB 51 ± 6 %) permitem afirmar que o sêmen de tambaqui pode ser criopreservado adequadamente em criotubos de 1,6 e 5,0 mL. Palavras-chave: cinética espermática, *Colossoma macropomum*, descongelamento, envase, viabilidade espermática.

“Apoio: FAPITEC; CNPq e EMBRAPA.”