

## EFEITO DO DIMETILSULFÓXIDO (DMSO) SOBRE O TEMPO DE MOTILIDADE DE ESPERMATOZOIDES CRIOPRESERVADOS DE CURIMBA (*Prochilodus lineatus*)

TAINÃ FIGUEIREDO CARDOSO<sup>1</sup>; ESTELA FERNANDES DA SILVA<sup>2</sup>; JULIANA DO PRADO ALVES<sup>2</sup>; ÉRICA YOKOYAMA NAMBA<sup>2</sup>; ANTONIO SERGIO VARELA JR<sup>2</sup>; CARINE DAHL CORCINI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande - FURG – [tainaacardoso@hotmail.com](mailto:tainaacardoso@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande – FURG

<sup>3</sup>Faculdade de Veterinária – UFPel – [corcincd@gmail.com](mailto:corcincd@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O Curimba (*P. Lineatus*) é uma espécie migratória nativa dos rios sul americanos, representativa tanto na alimentação humana quanto na de espécies carnívoras, muitas das quais ameaçadas de extinção (VIVEIROS et al., 2009). A biotécnica de criopreservação de sêmen pode tornar possível a preservação da espécie estudada, refletindo diretamente na manutenção do ecossistema, além de potencializar a utilização de machos em programas de melhoramento genético. A utilização do diluidor *Beltsville Thawing Solution* (BTS), acrescida de crioprotetores como o DMSO (dimetilsulfóxido) tem se mostrado vantajosa em várias espécies de peixes (MARIA et al., 2006; MURGAS et al., 2007).

O DMSO caracteriza-se como um crioprotetor interno à célula espermática, capaz de auxiliar na manutenção das características seminais necessárias para a fertilização, durante o processo de congelamento (SUQUET et al., 2000), pois proporciona um ambiente osmótico e nutricionalmente ideal. Contudo, sua concentração ótima ainda não foi determinada, sendo esta variável e dependente da espécie estudada.

Desta forma, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito das concentrações de 2, 5, 8 e 11% de DMSO sobre o tempo de motilidade das células espermáticas pós-descongelamento do sêmen de *P. lineatus*.

### 2. METODOLOGIA

Para execução deste trabalho foram selecionados 12 reprodutores de curimba (*Prochilodus lineatus*) dos viveiros pertencentes a uma piscicultura comercial, com auxílio de redes de arrasto.

Esses reprodutores foram transportados para o laboratório, onde cada animal foi pesado e submetido ao tratamento hormonal com extrato bruto de hipófise de carpa para a indução da espermição. A dose utilizada foi de 0,5 mg/kg de peso corporal diluída em soro fisiológico e aplicada na nadadeira peitoral.

Aproximadamente 240 horas-grau após a aplicação do hormônio foi realizada a coleta do sêmen, através de extrusão por massagem abdominal no sentido crânio-caudal. Após constatar que não ocorreu ativação prévia, sendo a motilidade avaliada em microscópio de contraste de fases (400x) (STREIT JUNIOR et al. 2006).

Posteriormente, as amostras foram diluídas em meio BTS na proporção 1/4 (v/v). Ocorreu o fracionamento com DMSO nas concentrações de 2, 5, 8 e 11%. Após, as amostras foram envasadas em palhetas de 0,25ml, estabilizadas em

temperatura ambiente (24 °C) durante 2 minutos e foram alocadas em botijão do tipo dry shipper, à -70 °C por 24h, sendo transferidas para o botijão de nitrogênio líquido a -196 °C, onde permaneceram submersas por sete dias.

Em seguida, realizou-se o descongelamento em banho-maria a 37 °C por 5 segundos e alíquotas de 2 µL do sêmen descongelado foram colocadas em contato com 10 µL de água destilada para ativação da motilidade espermática. A contagem do tempo de motilidade ocorreu com auxílio de um microscópio óptico com aumento de 40X, em lâmina e lamínulas pré-aquecidas. Considerou-se o período de tempo decorrido em segundos entre a homogeneização do sêmen com o ativador (água destilada), ou seja, o início da motilidade espermática até a parada total da movimentação espermática.

O efeito das concentrações foi testado por análise de variância, seguido pelo teste de Tukey, para comparação das médias. Todas as análises foram realizadas com o Statistic 9.0 ®.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que a concentração de 5% apresentou um período maior de motilidade celular média em segundos, contudo não diferiu das concentrações de 2 e 8%. Apenas as concentrações de 5 e 11% diferiram entre si ( $P < 0,05$ ).

Tabela 1: Período de motilidade pós-descongelamento de sêmen de *P. lineatus*, para todas as concentrações de dimetilsulfóxido (DMSO) testadas (média ± erro padrão).

<i>Tratamentos</i>	<i>Tempo de motilidade</i>
2%	16,8 ± 4,7 <sup>ab</sup>
5%	23,4 ± 4,7 <sup>a</sup>
8%	17,4 ± 4,7 <sup>ab</sup>
11%	9,6 ± 4,7 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes nas linhas diferem estatisticamente

A concentração de 5% de DMSO garantiu o maior tempo de motilidade dos espermatozoides, ao passo que a concentração de 11% de DMSO o menor. A motilidade espermática mantida por um menor tempo, como no caso da concentração de 11% de DMSO, pode comprometer a capacidade fertilizante, pois reduz o tempo de contato entre os gametas e o número de espermatozoides disponíveis para a fertilização.

Um menor tempo de motilidade prejudica especialmente peixes reofílicos, como o curimba (SILVA et al., 2009), pois sua reprodução está geralmente relacionada com fatores ambientais adequados às necessidades metabólicas, de maneira a incrementar a viabilidade dos gametas e o favorecimento do desenvolvimento da prole.

### 4. CONCLUSÕES

Desta forma, a concentração de 5% de DMSO durante o congelamento de sêmen de *P. lineatus* é a mais indicada para manter o tempo de motilidade pós-descongelamento.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MARIA, N.A., VIVEIROS, A.T.M., FREITAS, R.T.F. AND OLIVEIRA, A.V. Extenders and cryoprotectants for cooling and freezing of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) semen, an endangered Brazilian teleost fish. **Aquaculture**. Brasil, v.260, p. 298- 306, 2006.

MURGAS, L.D.S.; MILIORINI, A.B.; FREITAS, R.T.F.; PEREIRA, G.J.M. Criopreservação do sêmen de curimba (*Prochilodus lineatus*) mediante adição de diferentes diluidores, ativadores e crioprotetores. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasil, v.36, n.3, p.526-531, 2007.

SILVA, J.M.; MURGAS, L.D.S.; FELIZARDO, V.O.; PEREIRA, G.J.M.; NAVARRO, R.D.; MELLO, R.A. Características seminais e índices reprodutivos de curimba (*Prochilodus lineatus*) em diferentes períodos reprodutivos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Brasil. v.10, n.3, 2009.

STREIT JUNIOR, D.P.; BENITES, C.; MORAES, G.V.; RIBEIRO, R.P.; SAKAGUTI E.S.; CALDIERI, R.F. Sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criopreservado com diluentes utilizados para sêmen de suínos. **Ciência Animal Brasileira**, Brasil, 7: 289-297. 2006.

SUQUET M., DREANNO C., FAUVEL C., COSSON J., BILLARD R. Cryopreservation of sperm in marine fish. **Aquaculture Research**. França, v.31, p. 231-243, 2000.

VIVEIROS A.T.M., ORFÃO L.H., MARIA A.N., ALLAMAN I.B. A simple, inexpensive and successful freezing method for curimba *Prochilodus lineatus* (Characiformes) semen. **Animal Reproduction Science**, Brasil, v.112, p. 293–300, 2009.