

INFLUÊNCIA DA SOLUÇÃO DILUIDORA NA QUALIDADE DAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS DO JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

CAROLINA VIÉGAS PINTO¹; IZANI ACOSTA BONEL²; INARAÃ DIAS DA LUZ³;
FERNANDA RODRIGUES MENDONÇA⁴; CARINE DAHL CORCINI⁵; ANTONIO
SERGIO VARELA JUNIOR⁶

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) 1 – carolinaviehas18@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – izanibonel@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – inadiamedvet@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – nandarm.vet@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – corcinicd@gmail.com

⁶Universidade Federal de Rio Grande (FURG) – varelajras@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um bagre amplamente distribuído pela América do Sul, apresentando um alto valor comercial sendo representativos na produção pesqueira algumas regiões, devido a seu rendimento e qualidade da carne BALDISSEROTTO et al. (2020). Ocupa a quarta posição das espécies com maior número de produtores no Brasil, totalizando 36 mil piscicultores distribuídos em 23 estados, com destaque para o Rio Grande do Sul com 56,7% da produção nacional (PEIXE BR, 2020). Visto seu potencial aquícola no país, são necessários mais estudos com a espécie em questão, com o intuito de otimizar sua população e assim suprir a demanda que crescente da espécie não prejudicando seu habitat natural. Uma forma de garantir a continuidade dessa espécie é a conservação seminal, através da preservação dos gametas masculinos para a utilização em reprodução assistida, além de conhecer a biologia e morfologia espermática.

Por isso, o desenvolvimento de técnicas aplicadas à reprodução vem assumindo papel relevante na aquicultura e na conservação de recursos genéticos MURGAS et al. (2004). As características químicas do meio determinam a duração do movimento dos espermatozoides, que em combinação com outros fatores desempenham papel essencial na qualidade desta célula (COSSON, 2004). As técnicas de resfriamento e congelamento utilizam soluções diluidoras, que tem como função diminuir o metabolismo espermático. Para o resfriamento seminal, o diluente irá diminuir a concorrência dos espermatozoides por oxigênio e espaço, além de ajudar a controlar o crescimento bacteriano no sêmen CAROLSFELD; HARVEY (1999). Normalmente essas soluções são compostas de sais ou carboidratos acrescentados ao sêmen, que têm como função manter a estrutura das células espermáticas durante a etapa de resfriamento das amostras LEGENDRE; BILLARD (1980).

As características físico químicas, das soluções em que o sêmen é diluído, podem influenciar na célula espermática, dentro delas encontra-se as propriedades da osmolaridade. A osmolaridade refere-se ao número de partículas osmoticamente ativas de soluto contidas em um litro de uma solução (MOTTA, 2009), sendo que existem relações claras entre a composição do plasma seminal, a osmolaridade da soluções e a qualidade dos espermatozoides ALAVI et al. (2006). Diante disso, têm-se buscado suplementar os meios diluentes com substâncias que minimizem ao máximo os danos que podem ser causados durante os processos de conservação de sêmen. O objetivo deste trabalho foi, portanto,

verificar a influência de diferentes osmolaridade da solução de diluição no sêmen, e seus efeitos na célula espermática do Jundiá (*Rhamdia quelen*).

2. METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado no laboratório de andrologia da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas. Coleta de sêmen ocorreu no laboratório de ictiologia da mesma universidade, totalizando amostras de 6 machos, a liberação de sêmen ocorreu após uma leve massagem abdominal (WOYNAROVICH ; HORVÁTH (1983). O sêmen foi diluído no diluente Beltsville Thawing Solution (BTS), esta solução apresentava diferentes osmolaridades, nas quais as amostras foram colocadas em contato, respectivamente: 280, 300, 320, 340, 360,380, 400. As amostras foram submetidas a análises de citometria: Membrana espermática, mitocôndria, espécies Reativas de oxigênio, Lipoperoxidação. Os dados que foram analisados após a 72 horas de exposição. Os dados foram analisados por teste Anova pois apresentaram distribuição normal.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variabilidade da composição iônica do plasma seminal e das células espermáticas descrita na literatura, aponta que existem importantes diferenças intra e interespecíficas em peixes BILLARD et al.(1995), o que provalmente interfere no mecanismo celular.

No presente trabalho, foi observado que as osmolaridades produziram algum efeito sobre a qualidade do sêmen. Os dados apresentados a seguir são análises de citomentria de fluxo, na qual foi avaliado alguns padrões celulares: Ruptura, funcionalidade de membranas viáveis, funcionalidade de membranas totais, funcionalidade de mitocôndria viáveis, funcionalidade de mitocôndrias totais, espécies reativas de oxigênio, lipoperoxidação lipidíca.

Embora não tenhamos identificado diferenças estatisticamente significativas no conjunto de dados, é notável uma disparidade entre os tratamentos em várias análises. Por exemplo, em relação à ruptura celular, o Tratamento 3 apresentou um desempenho superior. Já no que diz respeito às membranas celulares intactas, o Tratamento 6, com osmolaridade de 380 mOsm/L, se destacou em comparação com os outros tratamentos, como demonstrado na Tabela 1. O mesmo comportamento foi observado nas mitocôndrias, onde o Tratamento 6 alcançou os melhores resultados, como evidenciado na Tabela 1.

Para o sêmen criopreservado de *Rhamdia quelen* QUOY; GAIMARD (1824), onde as osmolaridades com concentrações superiores à do plasma seminal influenciaram negativamente as taxas de ativação, o tempo de duração da motilidade, e as velocidades de deslocamento do sêmen (COSTA,2020). No entanto se trata de uma pesquisa com metodologia, e objetivos que diferem deste trabalho, mas é interessante ressaltar que uma osmolaridade elevada nem sempre é benéfica a espécie,como já foi comprovado em outras pesquisas.

Contudo, os resultados parciais deste estudo demonstraram que há uma melhor eficiência nas qualidade e equilíbrio celular utilizando soluções diluidoras com osmolaridades a partir de 300 mOsm l-1, sendo a osmolaridade de 380 mOsm l-1 a que melhor surtiu efeito, se comparada aos demais tratamentos.

Tabela 1: Avaliação da Qualidade Celular em Diferentes Osmolaridades (280, 300, 320, 340, 360, 380, 400) Após 72 Horas de Exposição, Utilizando Citometria para Análise de Membrana Espermática ruptura (Rup) e integridade de membrana (MEV), Mitocôndria (MIV), Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) e Lipoperoxidação (LPO):

	280	300	320	340	360	380	400
Rup	25,5 ± 3,7 ^A	21,1 ± 3,1 ^A	20,6 ± 2,6 ^A	28,3 ± 4,4 ^A	24,6 ± 3,6 ^A	21,5 ± 2,4 ^A	21,0 ± 3,0 ^A
MEV	34,3 ± 5,7 ^A	31,4 ± 5,3 ^A	24,7 ± 2,3 ^A	31,7 ± 3,3 ^A	33,5 ± 4,6 ^A	36,0 ± 6,8 ^A	35,2 ± 8,4 ^A
MIV	28,5 ± 3,6 ^A	27,2 ± 2,7 ^A	29,9 ± 1,8 ^A	31,5 ± 3,6 ^A	27,4 ± 2,2 ^A	32,3 ± 4,3 ^A	28,6 ± 2,0 ^A
ROS	378832 ± 50522 ^A	25476 ± 38650 ^A	228127 ± 37920 ^A	322967 ± 60580 ^A	310227 ± 62236 ^A	296970 ± 33171 ^A	304301 ± 37735 ^A
LPO	41,3 ± 10,4 ^A	44,1 ± 17 ^A	43,0 ± 9,2 ^A	44,3 ± 8,0 ^A	38,4 ± 8,8 ^A	41,3 ± 8,4 ^A	45,2 ± 8,7 ^A

4. CONCLUSÕES

Para a qualidade da célula espermática de *R. quelen* a solução diluidora deve ser hiperosmótica em relação ao plasma seminal. Soluções com concentrações acima de 300 mOsm l – foram as soluções que obtiverm melhores taxas referentes aos parâmetros celulares analisados, comparada as soluções com osmolaridades na faixa dos 200 mOsm l –. Desta forma concluímos que a melhor osmolaridade para as células espermáticas com 72 horas de análises para o *R. quelen* é de 380 mOsm l.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAVI, S. M. H.; COSSON, J. Sperm motility in fishes: (II) effects of ions and osmotic pressure. *Cell Biology International*, Londres, v. 30, p. 1-14, 2006.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA. Anuário PeixeBR da Piscicultura 2020. São Paulo, SP: Associação Brasileira de Piscicultura, 2020.
- BALDISSEROTO, B., et al. *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*. Elsevier. 344p. 2020.
- BILLARD, R.; COSSON, J.; CRIM, L.W.; SUQUET, M. Sperm physiology and quality. In: BROMAGE, N. R.; ROBERTS, R. J. (Ed.). *Broodstock management and egg and larval quality*. Cambridge: Cambridge University Press, Cambridge, p. 53-76, 1995.
- CAROLSFELD, D. J.; HARVEY, B. *Conservação de recursos genéticos de peixes: teoria e prática*. Tradução de H. P. Godinho. Victoria, Canadá: World Fish Trust. Curso de treinamento brasileiro. 47 p, 1999.
- COSSON, J. The ionic and osmotic: factors controlling motility of fish spermatozoa. *Aquaculture International*, v. 12, p. 69-85, 2004
- COSTA, F.S. Efeito da solução ativadora sobre a motilidade do sêmen crioconservado de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). 2020 p.31 dissertação (mestrado em aquicultura) -Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina.

- MOTTA, V. T. Bioquímica clínica para o laboratório – princípios e interpretações. Rio de Janeiro: MedBook, UFSC, 120p, 2009.
- MURGAS L.DS, Miliorini AB, Franciscatto RT, Maria AN. Viabilidade espermática do sêmen de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) resfriado a 4°C. Rev Bras Zootec, v.33, n.6, p.1361-1365, 2004.
- LEGENDRE, M.; BILLARD, R. Cryopreservation of rainbow trout sperm by deep freezing. *Reproduction. Nutrition at Developpement*. v.20, p.1859-1868, 1980.
- REID. S,L. La biologia do los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* Y *Pseudoplatystoma tigrinus* em la cuenca del rio Apure, Venezuela. *Unellez de Ciencia y Tecnologia, Barinas*, v 1, p. 13-41, 1983.
- WOELDERS, H. Maintainig quality of boar sperm during storage and transportation. *Pigs Misset*, v. 8, n. 1, p. 22-23, 1992.
- WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão. Brasília: Escopo, 1983.