CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMATOFÓROS DO CAMARÃO-DA-AMAZÔNIA (*Macrobrachium amazonicum*) UTILIZANDO DIFERENTES CRIOPROTETORES

Caio Henrique do Nascimento FERREIRA[1,4], Juliana Máximo Siqueira de SOUZA[1], Baltasar Fernandes GARCIA NETO[2,3], Wagner C. VALENTI[3]

[1]*Graduação em Engenharia de Aquicultura – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santos – Campus Alegre – Alegre, ES. e-mail: caiohenrique1048@hmail.com*
[2]*Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento Animal – Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" – FCAV/Jaboticabal, SP*
[3]*Centro de Aquicultura da Unesp – Jaboticabal, SP*

Palavras-chave: Espermatóforo, criopreservação, *Macrobrachium*.

INTRODUÇÃO

O camarão-da-amazônia (*Macrobrachium amazonicum*) é uma espécie nativa que apresenta grande interesse comercial por possuir rápido crescimento, grande rusticidade, resistência a doenças, fácil reprodução e adaptação a ambientes artificiais (MORAES-RIODADES, 2004). Essa espécie habita diversos tipos de ambientes lóticos na América do Sul, sendo encontrada em rios ricos em sedimentos e sais dissolvidos, como os rios de águas brancas da bacia Amazônica e rios e lagoas do Pantanal.

A criopreservação de espermatóforos (estrutura de armazenamento dos espermatozóides) é uma técnica importante para conservação de recursos genéticos e domesticação de crustáceos. Com esta técnica é possível restaurar espécies em perigo de extinção, realizar reprodução em cativeiro sem limitações sazonais e facilitar o melhoramento genético de características importantes para sua produção, como resistência a doenças e maior peso a despesca.

Os crioprotetores são substâncias utilizadas na criopreservação e são responsáveis pela conservação e integridade das células antes e depois do congelamento. Os crioprotetores mais utilizados são os permeáveis que protegem as organelas das células durante o resfriamento e permitem absorção pelas membranas celulares com relativa facilidade, como por exemplo: dimetilsulfóxido (DMSO), glicerol, propanodiol, etilenoglicol e propilenoglicol.

Considerando a importância de estudos de criopreservação para espermatóforos, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de dois tipos de crioprotetores na criopreservação de espermatóforos de *M. amazonicum*

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 30 exemplares machos de *M. amazonicum* (9,35 ± 3,40g) dos viveiros de reprodutores do setor de Carcinocultura localizado no centro de aquicultura da UNESP.

Os camarões receberam estímulos elétricos de 7,5 volts aplicados nos poros genitais dos machos. Foram coletados 45 espermatóforos, dos quais 36 foram condicionados em microtubos (2 ml) e submetidos a dois tipos de crioprotetores: glicerol (GLI) e etilenoglicol (EG), em duas concentrações 5% e 10%. Os 9 espermatóforos restante foram considerados como controle e foram alocados em papel alumínio (AKARASANON *et al.*, 2004). Todas as amostras foram levadas ao freezer para armazenamento a uma temperatura de -18º C.

Para verificar a sobrevivência espermática, as amostras foram divididas em 3 períodos: 1, 7 e 14 dias. Os espermatóforos foram descongelados em seus respectivos períodos em água numa temperatura de 30ºC por 5 minutos. Após o descongelamento foram adicionados 25µl de eosina a 0,5% e 50µl de nigrosina a 1% e realizou-se o esfregaço em lâmina corada. Após esse procedimento, as lâminas coradas foram observadas em microscópio de luz e um total de 100 espermatozóides foi contabilizado, identificando-se a proporção de espermatozóides viáveis (células não coradas) e inviáveis (células coradas).

Os resultados foram transformados de porcentagem para valores absolutos utilizando o arco-seno da raiz quadrada. Posteriormente, os dados foram analisados utilizando análises de variância (ANOVA) independentes para cada período de armazenamento. Quando existiu diferença entre os crioprotetores houve comparação de médias utilizando teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos são apresentados na Figura 1. No primeiro período avaliado não houve diferença estatística significativa entre o controle e o etilenoglicol considerando as duas concentrações. Entretanto, no segundo período, o controle e o etilenoglicol 10% apresentaram sobrevivência espermática superior aos outros tratamentos. Com estes resultados inferimos que até o 7º dia, os espermatóforos poderiam ser armazenados congelados sem uso de crioprotetores mantendo sua viabilidade ao redor de 90%. Estes resultados são similares aos encontrados por AKARASANON *et al.* (2004) para a espécie *Macrobrachium rosenbergii*. No período mais longo de armazenamento ocorreu uma redução na sobrevivência espermática sem o uso de crioprotetor, enquanto que as maiores taxas de

viabilidade foram encontradas utilizando etilenoglicol a 10% e a 5% (69% e 58%, respectivamente).

O glicerol apresentou os maiores níveis de inviabilidade como crioprotetor. Esta substância foi avaliada neste estudo porque é amplamente utilizada como crioprotetor de células de crustáceos. Entretanto, geralmente o glicerol é aplicado em células para períodos mais longos de criopreservação, seguidos de uma curva específica de resfriamento (redução gradativa da temperatura), procedimento que não foi aplicado neste estudo.

Concluímos que o espermatóforo do camarão-da-amazônia pode ser armazenado à -18º C por até 7 dias dispensando o uso de crioprotetores, sem comprometer a viabilidade dos espermatozóides. Para períodos de 7 a 14 dias recomendamos o uso de Etilenoglicol a 10 ou 5%.

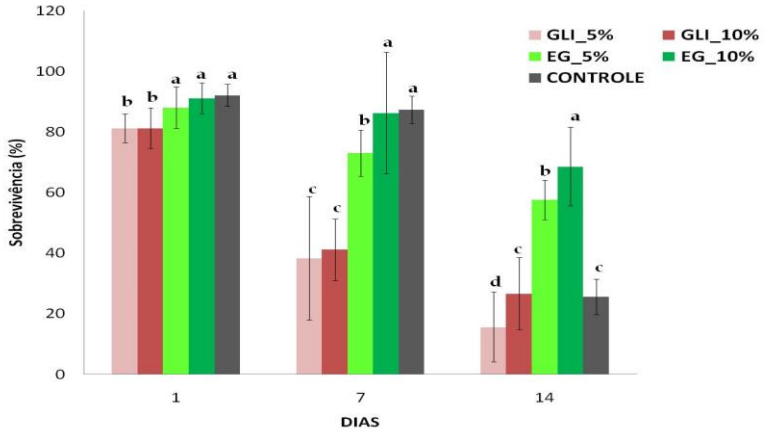

Figura 1. Sobrevivência espermática utilizando diferentes crioprotetores e controle. Gli = glicerol; EG = Etilenoglicol. (Médias seguidas de mesma letra dentro de cada período avaliado não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.)

REFERÊNCIAS

AKARASANON, K.; DAMRONGPHOL, P.; POOLSANGUAN, W. 2004 Long-term cryopreservation of spermatophore of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Research*, *35*: 1415–1420.

MORAES-VALENTI, P. e VALENTI, W. C. 2010 Culture of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*. In: NEW, M. B.; VALENTI, W. C.; TIDWELL, J. H.; D'ABRAMO, L. R.; & KUTTY, M. N. *Freshwater prawns: biology and farming*, New Jersey: John Wiley & Sons. p.485-501.

MORAES-RIODADES, P.M.C.; VALENTI, W.C. 2004 Morphotypes in Male Amazon river Prawns *Macrobrachium amazonicum*. *Aquaculture*, *236*: 297-307.