

RESFRIAMENTO DE EMBRIÕES DE *Steindachneridion parahybae*

Taís Silva LOPES¹, Eduardo Antônio SANCHES², Danilo CANEPPELE³, Elizabeth ROMAGOSA¹

¹Instituto de Pesca, APTA, SAA, São Paulo, SP, BR; ²UNESP, Campus Experimental de Registro, SP, BR.; ³CESP, Paraibuna, SP, BR.
e-mail¹: tais.peixegen@gmail.com

¹Órgão Financiador: FAPESP nº: 2014/21215-8

Palavras-chave: Espécie em extinção; solução crioprotetora; preservação gametas.

INTRODUÇÃO

A preservação dos recursos genéticos para a manutenção da vida aquícola tem se tornado cada vez mais relevante nos últimos anos. As populações naturais de peixes, de forma geral, estão ameaçadas, principalmente devido à pesca excessiva e poluição ambiental. Problema esse que também vem acontecendo como o surubim-do-Paraíba, *Steindachneridion parahybae* uma espécie endêmica, natural da bacia do rio Paraibuna do Sul, SP, que está na lista do Livro Vermelho de Espécies da Fauna Brasileira (MMA, 2008), e é considerada uma das espécies em condições críticas de extinção (IBGE, 2009). A criopreservação de gametas de peixes possibilita a preservação do genoma de espécies ameaçadas em extinção, aumentando a representação destes animais, assim como de animais para fins de produção, evitando perdas de material genético. A criopreservação de sêmen de distintas espécies tem sido extensivamente estudada, o material criopreservado utilizado eficientemente na reprodução, inclusive o surubim-do-Paraíba (SANCHES *et al.*, 2015), e a formação de criobancos de germoplasma. Em relação a conservação de embriões, até o momento os resultados são contraditórios, porém vem se avançando nos estudos sobre o resfriamento por curto período em temperaturas próximas a zero (LOPES *et al.*, 2015). Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi melhorar as taxas de eclosão de embriões de surubim-do-Paraíba resfriados a -10°C, utilizando diferentes soluções crioprotetoras.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois ensaios foram conduzidos utilizando-se diferentes concentrações dos crioprotetores interno, o metanol, e externo, a sacarose, para o resfriamento de embriões de surubim-do-Paraíba, no estágio de desenvolvimento de calda solta (cerca de 22 horas pós fertilização, hpf), por um período de 120 minutos a -10°C. Esses ensaios foram realizados na Estação de Aquicultura da CESP (Companhia

Energética do Estado de São Paulo), Paraibuna, SP, Brasil (Tabela 1). Paralelamente ao resfriamento, foi acompanhado o efeito das soluções crioprotetoras em temperatura ambiente.

Tabela 1. Tratamentos utilizados em cada ensaio experimental de resfriamento de embriões de surubim-do-Paraíba (22 horas pós-fertilização, hpf).

Ensaio 1	Ensaio 2
T1. Metanol [1M] + Sacarose [0,1M]	T1. Metanol [0,5M] + Sacarose [0,1M]
T2. Metanol [1M] + Sacarose [0,2M]	T2. Metanol [2M] + Sacarose [0,5M]
T3. Metanol [1M] + Sacarose [0,4M]	T3. Metanol [4M] + Sacarose [1,0M]

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O percentual de larvas totais eclodidas de cada ensaio experimental e o efeito de diferentes concentrações de crioprotetores foram testados e podem ser vistos na Fig.1. De forma geral, quanto maior a concentração de crioprotetor, menor os valores da taxa de eclosão, ou seja, maior o efeito toxicidade da solução sobre os embriões, tanto em temperatura ambiente quanto a -10°C . Na Fig.1A pode ser observada a taxa de eclosão dos embriões utilizando 1M de metanol em combinação a diferentes concentrações do crioprotetor interno sacarose. Houve diferença aparente apenas para o tratamento com menor concentração de sacarose submetido a estocagem no freezer, indicando que em temperaturas abaixo de zero a sacarose promove uma proteção externa eficiente aos embriões de surubim-do-Paraíba, e por isso a utilização de uma concentração maior que 0,1M é recomendada.

Dando continuidade aos estudos para conhecer o efeito de soluções crioprotetores contendo metanol e sacarose no resfriamento de embriões de surubim-do-Paraíba, foram testadas três soluções com baixa, média e alta concentração de ambos crioprotetores externo e interno (Fig. 1B). Pode-se observar que as concentrações influenciaram os valores da taxa de sobrevivência de embriões submetidos a estocagem em freezer, mas todas as concentrações foram melhores que o controle, sem a presença de crioprotetores. Ainda, concentrações baixa e média não exercem efeito negativo aos embriões em temperatura ambiente, diferente de alta concentração que parece ter efeito tóxico quando não submetida a temperatura abaixo de zero.

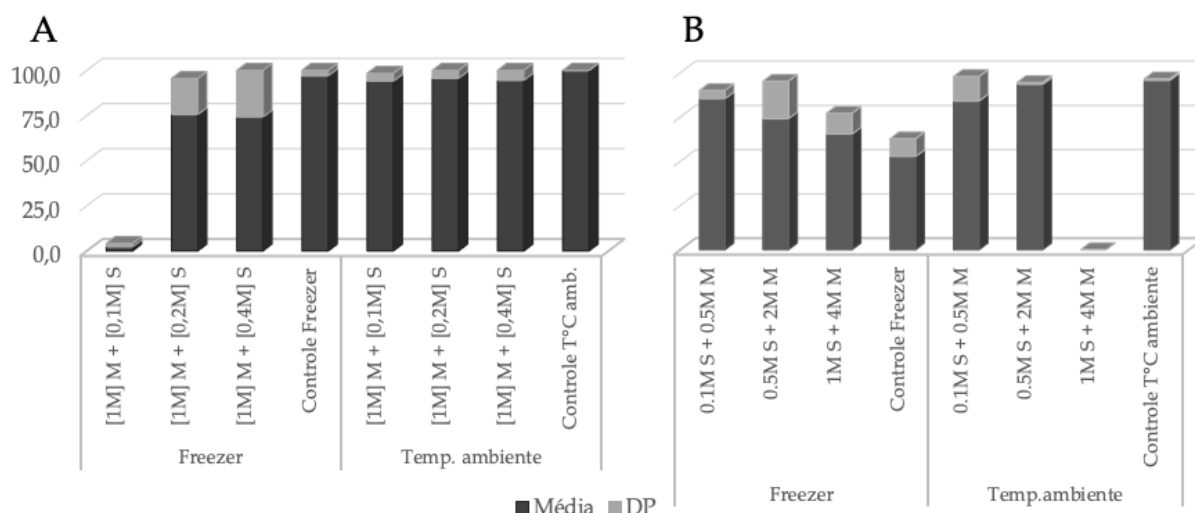


Figura 1. Médias $\pm$ DP da taxa de eclosão dos embriões de surubim-do-Paraíba submetidos ao resfriamento (-10°C) durante 120 minutos, em diferentes ensaios experimentais. A) Embriões em solução crioprotetoras contendo 1M de metanol (M), combinado com diferentes concentrações de sacarose (S): 0,1; 0,2 e 0,4M. B) Concentrações crescentes de solução crioprotetora contendo metanol (M) e sacarose (S). Ambos ensaios, os embriões foram mantidos em freezer (-10°C) e temperatura ambiente, por 120 min.

CONCLUSÃO

O resfriamento a -10°C de embriões de surubim-do-Paraíba é viável por até 120 minutos de estocagem. Porém, os próximos passos são testar maior período de estocagem e estocagem em temperaturas ainda mais baixas (-80°C) em relação a essas soluções crioprotetoras.

REFERÊNCIAS

- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2014 *Produção da pecuária Municipal*. Rio de Janeiro. 42: 1-39.
- LOPES, T. S.; SANCHES, E. A.; OKAWARA, R. Y.; ROMAGOSA, E. 2015 Chilling of *Steindachneridion parahybae* (siluriformes: pimelodidae) embryos. *Theriogenology*, 84: 538-544.
- MMA - Ministério do Meio Ambiente 2008 Portaria n. 445 de dezembro de 2014 (ed Federal MDMA-G). Imprensa Nacional, Diário Oficial da União - Seção 1, pp. 4.
- SANCHES, E. A.; OKAWARA, R. Y. ; CANEPPELE, D. ; TOLEDO, C. P. R ; BOMBARDELLI, R. A. ; ROMAGOSA, E. 2015 Sperm characteristics of *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) throughout 112 h of storage at four temperatures. *Journal of applied ichthyology*, 31: 79-88.