



Efeito da criopreservação sobre parâmetros de qualidade seminal de *Pangasianodon hypophthalmus*

**Carmen Fila Zeca Manjate, Lorena Pacheco Da Silva, Letícia Giosa Paulino, Denise de Sousa Santos,
Nathaly Godoy Da Silva, Rosicleire Veríssimo-Silveira, Alexandre Ninhaus-Silveira**

UNESP/FEIS - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Ilha Solteira. LINEO – Laboratório de
Ictiologia Neotropical. Ilha Solteira – SP/Brasil
E-mail: carmen.fz.manjate@unesp.br

Resumo

A criopreservação de sêmen é uma biotecnologia estratégica para a aquicultura, permitindo a conservação de recursos genéticos e a otimização de programas reprodutivos. Contudo, o congelamento pode comprometer a integridade estrutural e funcional dos espermatozoides. O presente estudo teve como objetivo determinar um protocolo criogênico eficiente para o sêmen de *Pangasianodon hypophthalmus*. Sete machos adultos foram submetidos à indução hormonal com extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC), com coleta do sêmen por massagem abdominal. Foram avaliadas a integridade da membrana plasmática, a motilidade espermática por meio do sistema CASA e a capacidade fecundante. Para a criopreservação, as amostras foram diluídas em quatro soluções crioprotetoras, compostas por crioprotetores internos (metanol ou dimetilsulfóxido a 10%) associados a diluentes (0,9 % de NaCl ou 5% de glicose acrescida de gema de ovo a 10%), envasadas em palhetas de 0,5 mL, congeladas em vapor de nitrogênio líquido e armazenadas a -196 °C. O descongelamento foi realizado em banho-maria a 37 °C por 30 segundos. Observou-se que o protocolo composto por dimetilsulfóxido associado a NaCl apresentou melhor desempenho, com motilidade espermática de $46,26 \pm 0,20\%$ e taxa de fertilização de $67,17 \pm 11,6\%$, evidenciando a manutenção da viabilidade funcional e da capacidade fecundante. Conclui-se que a criopreservação compromete a qualidade espermática de *Pangasianodon hypophthalmus*, porém a utilização de dimetilsulfóxido associado a NaCl mostrou-se mais eficiente na preservação da funcionalidade espermática e da capacidade fecundante após o descongelamento. Esses achados demonstram que a escolha adequada de crioprotetores e diluentes é determinante para o sucesso da técnica, permitindo a aplicação prática do protocolo em programas de reprodução controlada e bancos de germoplasma.

Palavras-chave: criopreservação, motilidade espermática, qualidade espermática.



Efeito da vitamina C na qualidade espermática pós-criopreservação de *Astyanax lacustris*

Nathaly G. da Silva¹, Stella I. R. Lobato¹, Lorena P. da Silva¹, Denise Souza-Santos¹, Leticia G. Paulino¹, Carmen F. Z. Manjate¹, Roscileire Veríssimo-Silveira¹, Alexandre Ninhaus-Silveira¹

¹Faculdade de Engenharia, UNESP, Campus de Ilha Solteira, Depto. de Biologia e Zootecnia,
Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO)
E-mail: nathaly.godoy@unesp.br

Resumo

Astyanax lacustris é uma espécie de grande importância, sendo fundamental o estabelecimento de um Banco gênico. Para tal, esta pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação da vitamina C da solução crioprotetora do sêmen de *A. lacustris*, com vistas a melhoria da qualidade dos espermatozoides criopreservados. Para os experimentos foram utilizados machos maduros de *A. lacustris*, sendo utilizadas amostras seminais de quatro pools (15 animais/pool), com análise prévia da motilidade espermática (MOT), considerando aqueles que apresentavam MOT $\geq 80\%$. Como diluente crioprotetor foi utilizado: solução Ringer + dimetilformamida 10% + NaCl 0,8%, suplementada com vitamina C (0, 1, 2 e 4mM). A diluição foi na proporção 1:9 (sêmen:diluente), envasado em palhetas (0,25mL) e congeladas em vapor de nitrogênio líquido (LN₂), a 2cm do LN₂/10 min. e mantido em botijão criogênico (-196°C). O sêmen criopreservado, foi descongelado em banho maria (40°C/5s) e submetido à avaliação das características seminais, como: integridade de membrana, morfologia e concentração e parâmetros cinéticos espermáticos. A vitamina C não contribuiu para a melhoria dos parâmetros cinéticos dos espermatozoides criopreservados, como a motilidade total: Sêmen Fresco (71.87 $\pm$ 6.32%^a), 0mM (23.07 $\pm$ 8.23%^b), 1mM (13.88 $\pm$ 8.64%^c), 2mM (8.86 $\pm$ 6.46 %^{cd}) e 4mM (2.83 $\pm$ 1.49%^d), como também as variáveis VCL, VSL e VAP não apresentaram melhoria. Também não contribuiu para a manutenção de integridade da membrana dos espermatozoides, sendo observado uma diminuição significativa para os espermatozoides criopreservados: sêmen fresco (99 $\pm$ 1.8%^a), 0mM (70,9 $\pm$ 4,15^b) e 2mM (55,2 $\pm$ 11.52%^d). O aumento de danos morfológicos foi progressivo com relação ao aumento da concentração de vitamina C, sendo 1mM (81.8 $\pm$ 6.32%^c) e 4mM (93.2 $\pm$ 2.77%^a). Conclui-se que, a suplementação de vitamina C na solução crioprotetora não proporcionou uma melhora efetiva na manutenção da qualidade dos espermatozoides criopreservados de *A. lacustris*.

FAPESP (Proc.2024/10393-4) BEPE (Proc. 2025/00149-1)

Palavras-chave: biotecnologia, lambari-do-rabo-amarelo, sêmen.



Diferentes Parâmetros que podem Afetar a Velocidade de Congelamento do Sêmen, quando Criopreservado em Caixa de Isopor ou DryShipper.

Alexandre Ninhaus-Silveira¹, C. S. Capuzzo¹, Roscileire Veríssimo-Silveira¹

¹Laboratório de Ictiologia Neotropical / LINEO, Depto. de Biologia e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista
“Julio de Mesquita Filho” – UNESP, Campus de Ilha Solteira

Resumo

A velocidade de congelamento é um dos itens, dos protocolos de criopreservação de espermatozoides, que pode causar alterações nas células, devido a formação de cristais de gelo. Sendo que há vários fatores que podem influir nesta velocidade, como: o equipamento, o volume do recipiente do sêmen e sua quantidade, a constância do resfriamento e a composição das soluções crioprotetoras (CPA). Este trabalho, teve como objetivo determinar as curvas de congelamento produzidas em dois equipamentos de congelamento (caixa de isopor (EPS) e DryShipper) considerando: duas diferentes CPAs ((a base de gema (GE) e de BTS) + DMSO 10%), o número de palhetas de 0,5mL (2, 4, 8 e 12, para EPS e; 2, 3 e 4, DryShipper considerando a porção superior e inferior do rack), e posicionamento das palhetas a 1 e 3cm do nitrogênio líquido (NL₂), na EPS. Foram realizadas cinco repetições para cada experimento. A velocidade de congelamento foi medida considerando o tempo que a palheta levou para atingir -80°C, a partir da temperatura ambiente. Para os dois equipamentos utilizados a solução de BTS proporcionou uma velocidade de congelamento média menor, e a queda da velocidade diretamente relacionado a quantidade de palhetas congeladas. Na EPS, a distância de 1cm não houve aumento significativo sobre o tempo de congelamento ao se utilizar diferentes quantidades de palhetas, mas a 3 cm ao congelar 12 palhetas houve uma queda de cerca de 39% na velocidade com GE e 47,6% no BTS. No DryShipper a disposição das palhetas na parte superior do rack proporcionou uma queda significativa da velocidade de congelamento. Concluiu-se que o sistema com a EPS proporciona mais estabilidade no congelamento para maior quantidade de palhetas, que a composição da solução crioprotetora tem influência na velocidade de resfriamento e que sistema criogênico com DryShipper e racks é mais sensível ao aumento de palhetas, sendo que disposição das palhetas na base baixa do rack proporciona maiores velocidades de congelamento.

Agradecimentos: Fapesp Proc. 2025/2830-5, Capes.

Palavras-chave: Curva de congelamento, criopreservação, sêmen de peixe.



Estudo descritivo das características seminais e análise do desempenho de diferentes meios de ativação espermática para o peixe *Pangasianodon hypophthalmus*

Leticia G. Paulino¹, Lorena P. Silva, Carmen F. Z. Manjate, Nathaly G. Silva, Denise, S. Santos, Rosicleire Veríssimo-Silveira, Alexandre Ninhaus-Silveira

¹LINEO – Laboratório de Ictiologia Neotropical. UNESP/FEIS - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho” - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Resumo

O *Pangasianodon hypophthalmus* é um peixe de água doce amplamente cultivado na aquicultura e destaca-se pelo rápido crescimento, alta prolificidade e boa aceitação de sua carne, porém sua reprodução em cativeiro depende de indução hormonal, tornando essencial o conhecimento de sua biologia reprodutiva. Portanto, este estudo teve como objetivo caracterizar o sêmen da espécie e avaliar a eficiência de diferentes ativadores espermáticos, visando contribuir para o aprimoramento da reprodução induzida. Foram utilizados 16 machos adultos, submetidos à indução hormonal, com posterior coleta e análises seminais. Os resultados demonstraram volume seminal médio de 1,02 mL, alta concentração espermática ($7,5 \times 10^9$ espermatozoides/mL), elevada integridade de membrana ($89,7\% \pm 2,80$) e alta taxa de normalidade espermática ($88,28\% \pm 3,49$), indicando boa viabilidade seminal. A motilidade variou conforme o ativador utilizado. A água destilada apresentou a maior motilidade espermática ($86,77 \pm 0,17\%$), diferindo significativamente dos demais ativadores ($p < 0,05$), além de maior linearidade ($80,80 \pm 9,79\%$) com trajetórias consistentes. O NaCl 0,45% apresentou motilidade intermediária ($67,24 \pm 0,23\%$) e maior velocidade média de trajetória ($141,11 \pm 37,01 \mu\text{m/s}$), associada a trajetórias menos lineares. Já o NaHCO_3 1% apresentou a menor motilidade ($42,34 \pm 0,29\%$) e maior irregularidade no movimento espermático. Os resultados demonstram que *P. hypophthalmus* produzido no Brasil apresenta características seminais semelhantes às descritas para espécimes cultivados em seu país de origem. Além disso, os resultados das análises cinéticas revelaram elevados valores de motilidade e velocidades espermáticas. Entre os meios testados, a água destilada foi o ativador mais eficiente para o sêmen da espécie. Assim, este estudo amplia o conhecimento sobre a biologia reprodutiva da espécie no Brasil, contribuindo para o avanço da aquicultura e das biotecnologias reprodutivas.

Agência financiadora: FAPESP - Processo: 2024/09246-7

Palavras-chave: aquicultura, pangasius, sêmen.



Post-thaw quality of Nile tilapia semen stored in liquid nitrogen (-196°) or ultra-freezer (-80°)

**Bruna Conceição Ferreira¹, Fernanda Carlini Cunha Santos², María Regina de Oliveira Queiroz¹,
Naiara Cristina Motta³, Luis David Solis Murgas¹, Rilke Tadeu Fonseca Freitas¹**

¹Universidade Federal de Lavras (UFLA); ²Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

³Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA-AM)

E-mail: *carlini.fernanda@hotmail.com

Resumo

Reproduction, genetic improvement, and semen cryopreservation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) are important tools for productivity, genetic variability, and conservation of genetic resources. Although cryopreservation protocols are well established in mammals, different methods are still being investigated in fish, mainly with liquid nitrogen storage. However, ultra-freezers may represent an alternative, especially in permanent germplasm banks. Thus, this study aimed to evaluate a protocol for tilapia semen ultra-freezer storage. Semen was collected by manual extrusion from 24 males, weight ± 1 kg, and combined into pools of three males each, resulting in eight semen pools. A solution of 350 mM glucose, 30 mM Tris, and 10% dimethylacetamide (DMA) at a 1:3 ratio (semen:extender) was added to each pool. Samples were equilibrated at 4 °C for 10 min, packed into 0.5 mL straws, sealed with polyvinyl alcohol, and exposed to liquid nitrogen vapor for 10 min. Straws were then stored either in liquid nitrogen (-196 °C) or in an ultra-freezer (-80 °C). After 30 days, samples were thawed at 30 °C for 30 s. Sperm evaluation included motility (%), vigor (1–5), motility duration (s), plasma membrane integrity (%), morphology (%), and oxidative stress parameters. Data was analyzed by descriptive statistics and ANOVA using R software. Liquid nitrogen storage showed significantly higher sperm motility (30.9 ± 15.8 vs. $7.8 \pm 6.4\%$), vigor (2.9 ± 0.7 vs. 1.4 ± 1.1), motility duration (201.9 ± 161.9 vs. 42.3 ± 37.4 s), and plasma membrane integrity (25.2 ± 14.2 vs. $10.1 \pm 9.8\%$) compared to ultra-freezer ($P < 0.05$). No significant differences were observed for oxidative stress parameters. In conclusion, liquid nitrogen storage provided better post-thaw semen quality than ultra-freezer storage. However, further studies are needed to optimize cryopreservation protocols followed by ultra-freezer storage for fish genetic resource conservation.

Key-words: cryopreservation, fish semen, germplasm bank, *Oreochromis niloticus*, storage.

Acknowledgments: The authors thank FAPEMIG, CNPq, Capes and Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.



Padronização de configurações do software de código aberto ImageJ/CASA para avaliação da cinética espermática em *Piaractus mesopotamicus*

Eduardo Antônio Sanches^{1,2}, Janaína Sayuri Imafuku Valandro², Ana Regina Seabra De Souza²

¹Departamento de Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira FCAVR-UNESP, Registro/SP. ²Centro de Aquicultura da Unesp-CAUNESP, Jaboticabal/SP
E-mail: eduardo.sanches@unesp.br

Resumo

A avaliação espermática com CASA é aplicada por proporcionar resultados mais confiáveis da cinética espermática, porém, se as configurações empregadas não foram adequadas para a espécie, erros graves nas avaliações podem ocorrer, comprometendo a técnica. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi determinar as configurações mínimas para considerar uma célula espermática de *P. mesopotamicus* como móvel. Para tanto, 18 machos foram utilizados e os vídeos de movimentação foram gravados durante 40s de movimento e em seguida editados e avaliados minuciosamente pelo plugin CASA utilizado no *software* ImageJ. Para definição de espermatozoides móveis ou imóveis pelo *software*, foi realizada uma avaliação individual de 120 células espermáticas que apresentaram movimento lento ($n=60$) e estático ($n=60$), aos quais foram isoladas separadamente, e, a partir das coordenadas em um plano cartesiano as velocidades (curvilínea - VCL, média de deslocamento - VAP e em linha reta - VSL) foram calculadas ($V=(\sqrt{\Delta x^2 + \Delta y^2})/\text{tempo}$). A partir dos resultados obtidos, dez diferentes combinações de valores mínimos para considerar as células como móveis foram definidas e aplicadas. Na sequência aplicou-se anova e teste de comparação de médias de tukey (5%) nos resultados de taxa de motilidade gerados pelo *software*. Verificou-se eficiência na avaliação espermática de *P. mesopotamicus*, a partir da combinação de velocidades mínimas para considerar as células móveis de $VCL=25\mu\text{m s}^{-1}$, $VAP=12\mu\text{m s}^{-1}$ e $VSL=9\mu\text{m s}^{-1}$. Valores menores possibilitam ao *software* reconhecer células que permanecem estáticas, ou com movimento não progressivo no seu próprio eixo como móveis. Já quando valores mais elevados, há uma exclusão de células com movimento lento, ou seja, que podem possuir capacidade de promover uma eventual fecundação. Neste sentido, a combinação indicada se mostrou mais eficaz para reconhecer células móveis e diferir das células estáticas.

Palavras-chave: avaliação computadorizada, pacu, qualidade espermática.



Cinética espermática de *Piaractus mesopotamicus* após indução com LHRHa

Alexandra da Silva Barroso¹, Raquel Cristina Braga Pinto², Ana de Seabra Souza¹, Guilherme Infante Torres²,
Lukas Yuya Makino², Rick Soares², Eduardo Antônio Sanches^{1,2}

¹Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - CAUNESP, Jaboticabal/SP,

²Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira – FCAVR, Unesp Registro/SP

E-mail: cristina.braga@unesp.br

Resumo

A produção de peixes provenientes da piscicultura cresce anualmente com a tilápia, entretanto, espécies nativas ainda necessitam tecnologias produtivas eficientes para que crescimento satisfatório, dentre elas o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) destaca-se como uma promissora espécie devido ao potencial de cultivo, rusticidade e elevado ganho de massa corporal. Contudo, por ser uma espécie migradora, necessita de indução hormonal para reprodução em cativeiro, sendo o extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC) o hormônio mais utilizado, apesar das críticas relacionadas a oferta incerta e ausência de regulamentação. Dessa forma diante das lacunas existentes, o presente estudo objetivou-se utilizar o indutor hormonal LHRHa [des-Gly¹⁰, D-Ala⁶]-LH-RH etilamida, para em machos de pacu avaliando-se a cinética espermática. Foram utilizados 16 machos, sendo quatro repetições e quatro tratamentos constituídos por T1- LHRHa 5 µg/kg, T2- LHRHa 15 µg/kg, T3- EBHC 2,5 mg/kg e T4 Controle (soro fisiológico). Após a indução procedeu-se com a coleta dos gametas após 240 hora-graus, sendo avaliados os parâmetros de cinética pelo software imageJ/plugin CASA. Os dados foram submetidos à análise estatística *main-effects* ANOVA 5% de significância e em caso de não atingir os pressupostos, análise de KruskalWallis (KW). Não foram verificados efeitos ($p>0,05$) para os parâmetros, exceto para a motilidade, no qual o EBHC apresentou maior valor ($99,0\pm0,9$) em comparação ao controle ($86,3\pm10,6$) ($p<0,05$ – KW), porém não diferindo dos tratamentos do LHRHa e para a retilinearidade (STR) com menores valores ($63,3\pm4,5\%$) para 5 µg/kg de LHRH em comparação aos demais ($>75\%$). A média geral para os demais parâmetros foram de $204,4\pm16,5\mu\text{m/s}$, $136,6\pm15,9\mu\text{m/s}$, $98,9\pm19,1\mu\text{m/s}$, $67,0\pm8,7\%$, $1692,6\pm279,3\mu\text{m}$ e $19,5\pm3,2\text{Hz}$ para VCL, VAP, VSL, WOB, PROG e BCF, respectivamente. Conclui-se que os tratamentos com LHRHa não trouxeram efeitos negativos e sugere-se como indutor alternativo para a espécie.

Palavras-chave: Indutor hormonal, Pacu, Reprodução.



Triagem *in silico* de genes candidatos do eixo reprodutivo em peixes marinhos com potencial aplicação em reprodutores de *Pogonias courbina* e *Mugil liza*

Gabriel Dutra Rodrigues¹, Liseth Carolina Perenguez Riofrio¹, Ulysses Silva Palma¹, Everton Danilo Santos¹,
Caio Magnotti¹, Aline Brum Figueredo Ruschel¹

¹Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), Universidade Federal de Santa Catarina
E-mail: gabrieldr.zootecnia@gmail.com

Resumo

A reprodução controlada de peixes marinhos ainda representa um desafio para a aquicultura, especialmente em espécies marinhas costeiras como *Pogonias courbina* e *Mugil liza*. A identificação de genes associados ao eixo reprodutivo pode subsidiar estudos de maturação gonadal, qualidade de reprodutores e desenvolvimento de biomarcadores moleculares. Este trabalho teve como objetivo realizar uma triagem *in silico* de genes candidatos do eixo hipotálamo-hipófise-gônada, como etapa inicial para seleção de alvos com potencial aplicação nessas espécies. Foram pesquisados em banco de dados (NCBI) os genes *gnrh1*, *gnrh2*, *gnrh3*, *fshβ*, *lhβ*, *era*, *erβ*, *ar*, *cyp19a1a*, *vtgA*, *vtgB* e *vtgC*, utilizando como espécies proxy *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata*. As buscas foram complementadas por análises de similaridade em TSA, incluindo sequências anotadas para Mugilidae e Sciaenidae, considerando score, e-value, identidade e cobertura. Entre os genes avaliados, *gnrh1*, *gnrh2*, *gnrh3*, *ar*, *cyp19a1a* e *vtgC* apresentaram resultados positivos em espécies relacionadas, com identidades superiores a 70% e boa cobertura, destacando *ar* e *vtgC* como particularmente conservados. Por outro lado, apesar de terem sido pesquisados, *fshβ*, *lhβ*, *era*, *erβ*, *vtgA* e *vtgB* não foram recuperados ou não apresentaram registros suficientes, evidenciando limitações na disponibilidade de dados moleculares para peixes marinhos de interesse aquícola. Conclui-se que *ar*, *gnrh* e *vtgC* se destacam como candidatos promissores para estudos futuros de expressão gênica e prospecção de biomarcadores em reprodutores de *P. courbina* e *M. liza*, pois apresentaram altas identidades e boa cobertura em sequências de Sciaenidae e Mugilidae. Além disso, a triagem realizada demonstra que abordagens *in silico* são úteis para selecionar genes prioritários mesmo em contextos de baixa disponibilidade de dados específicos, reforçando a necessidade de ampliar a caracterização molecular da reprodução nessas espécies. Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) do Brasil – Código de Financiamento 001. Também foi financiado pelos projetos “Sustainable Blue Economy Partnership (SBEP) BLUEBOOST” (ID: SBEP2023-725) em conjunto com European Union COFUND, Horizon Europe, FAPESC 2024TR000109 e FAPESC 2024TR002756.

Palavras-chave: biomarcadores, marcadores moleculares, miragaia



Morfologia espermática de sêmen pós-descongelado de *Prochilodus brevis* suplementados com AFPs III e GAGs

Carmina Sandra Brito Salmito-Vanderley^{1,2}, Renata Vieira Nascimento¹, José Ariévil Gurgel Rodrigues², Ianna Wivianne Fernandes Araújo², Yasmin Maia Ferreira¹, Rodrigo Maggioni²

¹Universidade Estadual do Ceará, ²Universidade Federal do Ceará
E-mail: sandra.salmito@uece.br

Resumo

Apesar dos avanços na criopreservação seminal de peixes, ainda existem limitações a respeito dos danos celulares provocados pelo frio. Assim, torna-se necessária a avaliação de novas substâncias capazes de otimizar os meios de congelamento e preservar a qualidade espermática. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes concentrações de proteínas anticongelantes do tipo III (AFPs III) e glicosaminoglicanos (GAGs) extraídos da pele de tilápia, isolados ou associados, sobre a morfologia espermática de *Prochilodus brevis* submetidos à criopreservação. O sêmen de machos adultos foi coletado e diluído em solução padrão. Para a congelamento, a solução foi suplementada com três concentrações de GAGs (0,1; 0,25 e 0,5 mg/mL), AFPs III (0,1; 1,0 e 10 µg/mL) ou pela combinação entre essas substâncias, totalizando 15 tratamentos, além do grupo controle. Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, seguidos de ANOVA e teste SNK utilizando o software SAS (2002), adotando-se nível de significância de 5% ($P < 0,05$). A concentração espermática inicial foi de $15,41 \pm 14,35 \times 10^9$ espermatozoides/mL, sendo observado, no sêmen in natura, percentual médio de $85,50 \pm 3,78\%$ de espermatozoides com morfologia normal. Após a descongelamento, a maioria dos grupos manteve médias entre 75 e 82% de células morfolologicamente normais. Entretanto, a associação entre 0,1 mg/mL de GAG e 0,1 µg/mL de AFP III apresentou o menor percentual (~57,37%), sendo inferior ao grupo controle. Os demais grupos não diferiram do controle e apresentaram resultados superiores à combinação 0,1 mg/mL GAG + 0,1 µg/mL AFP III. Conclui-se que AFPs III e GAGs mantêm a morfologia espermática semelhante ao controle na maioria dos tratamentos avaliados. Entretanto, a combinação entre 0,1 mg/mL de GAG e 0,1 µg/mL de AFP III apresentou efeito negativo pós-descongelamento em *P. brevis*.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (313443/2023-8)

Palavras-chave: Polissacarídeo sulfatado, ação antioxidante, biotécnica reprodutiva.



Efeitos da suplementação de *Arthrospira platensis* na motilidade e integridade de membrana espermáticas pós-descongelamento de sêmen de *Brycon orbignyanus*

Pedro A. Oliveira¹, Jhon C.N. Costa², Gabriella V. Pereira¹, Maria R.O. Queiroz³,
William F. Carneiro¹, Luis D.S. Murgas³

¹PPGCV-UFLA, ²PPGZ-UFLA, ³DMV-UFLA
E-mail: lsmurgas@ufla.br

Resumo

A motilidade e a integridade de membrana espermática são indicadores da qualidade seminal pós-descongelamento, visto que a criopreservação pode causar danos celulares. Assim, a suplementação antioxidante em soluções crioprotetoras busca minimizar esses efeitos do congelamento. Neste trabalho objetivou-se avaliar a motilidade e a integridade de membrana espermática pós-descongelamento utilizando solução crioprotetora suplementada com diferentes concentrações de *Arthrospira platensis*. Foram utilizados 6 machos da espécie *Brycon orbignyanus*, advindos da estação de piscicultura da CEMIG, localizada em Itutinga-MG, Brasil. A coleta do sêmen foi realizada durante o mês de fevereiro, onde este foi envasado em palhetas de 0,5mL e alojado em botijão de nitrogênio líquido por 3 meses. Além do grupo controle (BTS 5% e Metilglicol 10%), foram testados 5 tratamentos onde a solução era suplementada com 8%, 10%, 12% e 14% de *A. platensis*. A análise da motilidade foi efetuada utilizando o software System Sperm Class Analyzer 6.6.64 e avaliadas a motilidade geral, velocidade curvilinear, velocidade média de percurso, velocidade em linha reta e frequência de batimento. A avaliação da integridade de membrana foi efetuada utilizando a coloração com eosina-nigrosina (2µl de esperma: 4µl de eosina-nigrosina) e espermatozoides não corados foram considerados com a membrana intacta, enquanto aqueles corados de rosa foram considerados com a membrana danificada. Após ANOVA e teste post hoc de Tukey ($p < 0,05$), o tratamento com 8% de *A. platensis* apresentou maior motilidade geral em relação ao controle. Para integridade de membrana, os tratamentos com 10% e 14% diferiram do controle, enquanto as demais concentrações não diferiram. Logo, a *A. platensis* nas concentrações utilizadas foi capaz de promover influência sobre a motilidade dos espermatozoides de *B. orbignyanus*, porém em relação a integridade de membrana, são necessários mais estudos.

Os autores agradecem o apoio das agências CAPES, CNPq, FAPEMIG e CEMIG.

Palavras-chave: Criopreservação; piracanjuba; sêmen



Efeito da condição de super macho sobre a qualidade espermática da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Paula Rodrigues¹, Felipe Magri², Vinicius Zabotto¹, Lucas Makino²,
Eduardo Antônio Sanches^{1,2}, Rafael Reis Neto^{1,2}

¹Centro de Aquicultura da Unesp - Caunesp, Jaboticabal/SP,

²Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira Câmpus de Registro

E-mail: paula.nunes@unesp.br

Resumo

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies mais importantes da aquicultura mundial. A incorporação de super machos na reprodução surge como uma estratégia promissora para gerar populações monossexo. No entanto, ainda são escassas as informações sobre os possíveis efeitos dessa condição na qualidade espermática e no desempenho reprodutivo dos animais. Diante disso, avaliou-se a qualidade espermática de supermachos e machos normais por meio da análise computadorizada de sêmen (ImageJ/CASA). Foram utilizados 4 supermachos e 4 machos normais para a coleta de sêmen. Para a ativação espermática, uma alíquota de 1 µL de sêmen foi diluída em 700 µL de água destilada e disposta em câmara de Neubauer. Após a ativação, foram capturados vídeos do movimento espermático em triplicata, utilizando microscópio com objetiva de 40x e câmera acoplada (100 fps). Os vídeos foram editados e analisados no CASA nos intervalos de 10, 20, 30, 40 e 50 segundos, avaliando-se a MOT, VCL, VAP, VSL. As médias das triplicatas foram submetidas a modelos lineares mistos, avaliando-se os efeitos de grupo, tempo e a interação entre esses fatores, caso necessário foi realizado o teste de Tukey. O tempo apresentou efeito significativo sobre os parâmetros espermáticos pós-ativação ($P < 0,05$), entre 10 e 50 segundos para MOT e VSL, enquanto para VAP e VCL ocorreu entre todos os tempos, demonstrando que, em ambos os grupos, a qualidade espermática reduziu ao longo do período. Não houve diferença significativa entre os grupos, assim como não houve efeito significativo da interação entre grupo e tempo ($P > 0,05$), indicando que a redução da qualidade espermática ocorreu de forma semelhante em machos normais e supermachos. Portanto, conclui-se que a condição de supermacho não interfere na qualidade espermática da tilápia-do-Nilo, reforçando a viabilidade de sua utilização em programas de produção de populações monossexo.

Agência financiadora: CAPES Processo nº 88887.142745/2025-00

Palavras-chave: Qualidade seminal, Monossexo, *Oreochromis niloticus*.



Sensibilidade e Permeabilidade dos Embriões de *Astyanax altiparanae* Provenientes de Reprodutores Alimentados com Ácidos Graxos Poli-insaturados à Soluções Crioprotetoras.

Bruna Rosa¹, Cristiane Bashiyo¹, Rosicleire Veríssimo-Silveira¹, Alexandre Ninhaus-Silveira¹

¹Departamento de Biologia e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” –
Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira, UNESP/FEIS
E-mail: bcs.rosa@unesp.br

Resumo

Os crioprotetores são essenciais nos processos de criopreservação de embriões, pois atuam reduzindo o ponto crioscópico e a formação de cristais de gelo. Entretanto, em embriões de peixes, sua ação é limitada devido à baixa permeabilidade das membranas. Considerando que maiores concentrações de ácidos graxos insaturados podem aumentar a fluidez e permeabilidade das membranas, este estudo teve como objetivo avaliar a sensibilidade de embriões de *Astyanax altiparanae* (seis (6S) e vinte (20S) somitos), provenientes de reprodutores alimentados com ácidos graxos ômega-3, às soluções crioprotetoras, bem como o possível aumento da permeabilidade das membranas. Para isso, 2.400 reprodutores de *A. altiparanae* (CEPTA/ICMBio) foram distribuídos em quatro tanques de 2.000 L, formando dois grupos: grupo controle (GC), alimentado com ração comercial (32% PB), e grupo óleo (GO), alimentado com a mesma ração suplementada com 5% de óleo de peixe marinho. Previamente aos experimentos, os ovos foram expostos à solução de pronase-E (25 mg/mL), visando à remoção do córion. Soluções à base de propileno glicol proporcionaram elevadas taxas de eclosão até 5 M (>80%) para todos os tratamentos (GC, GO, 6S e 20S). Soluções de metanol apresentaram resultados semelhantes até 4 M, enquanto o dimetilsulfóxido apresentou resultados satisfatórios até 3 M. Por outro lado, dimetilformamida, dimetilacetamida e glicerol propiciaram baixas taxas de eclosão (<50%) e menor percentual de larvas normais. Quanto à variação volumétrica, observou-se diferença significativa entre GO e GC nos dois primeiros minutos de exposição, com aumento do volume no GO e retração no GC, seguida de estabilização dos volumes médios. Com base nas taxas de eclosão, o GO apresentou maior sensibilidade aos crioprotetores, sugerindo que a suplementação com ácidos graxos essenciais pode ter aumentado a permeabilidade das membranas embrionárias, elevando a sensibilidade aos crioprotetores.

Palavras-chave: deformações, lambari, ômega-3, permeabilidade, propileno glicol.



Depleção gonadal parcial é suficiente para a colonização por células tronco germinativas homólogas em piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)

Raquel Santos¹, Danilo Pedro Streit Jr¹, Leonardo Alencar¹, Rafael Souza Furtado², Ronald Kennedy Luz²,
Diógenes Henrique Siqueira-Silva³

¹AQUAM Research Group, Animal Science Research Program and Veterinary Science Research Program, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, ²Laboratório de Aquacultura (LAQUA), Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais,

³Grupo GERPA, Departamento de Biologia, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

E-mail: racheelhere@gmail.com

Resumo

A piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) está criticamente ameaçada de extinção devido ao isolamento geográfico e ao severo afinamento genético de suas populações remanescentes. O transplante de células tronco germinativas (SSCs) surge como uma ferramenta promissora para restaurar a variabilidade genética da espécie. Entretanto, protocolos convencionais de esterilização baseados em busulfan ou estresse térmico prolongado apresentam impactos sistêmicos, limitando sua aplicação em espécies ameaçadas. Este estudo avaliou um protocolo de hipertermia isolada (34 °C por 30 dias) para promover depleção gonadal e validar receptores para transplante de SSCs homólogas oriundas de múltiplos indivíduos da mesma espécie. Fragmentos testiculares de doadores foram vitrificados, descongelados, dissociados enzimaticamente e as células viáveis purificadas em gradiente descontínuo de Percoll. Após marcação diferencial com PKH26 (vermelho) e PKH67 (verde), formando dois pools celulares independentes, as SSCs foram transplantadas via poro genital em 24 receptores submetidos ao tratamento térmico. Os animais foram monitorados por até 81 dias. A análise histológica revelou preservação tecidual e depleção parcial das células germinativas endógenas. Aos 81 dias pós-transplante, a microscopia de fluorescência associada ao DAPI confirmou a sobrevivência e colonização das SSCs transplantadas. Adicionalmente, a presença de oócitos fluorescentes em ovários receptores demonstrou plasticidade fenotípica e transdiferenciação sexual das espermatogônias. Apesar da presença de células endógenas, a depleção térmica parcial promoveu nichos suficientes para a incorporação e autorrenovação de células exógenas. Conclui-se que a esterilização completa não constituiu requisito para o estabelecimento de SSCs homólogas em *B. orbignyanus*, uma vez que a depleção gonadal parcial, induzida pelo proposto protocolo, foi suficiente para promover colonização e diferenciação celular de forma a contribuir como estratégia de restauração genética da espécie.

Palavras-chave: Conservação genética; criopreservação; transdiferenciação sexual.



Resposta espermática de *Colossoma macropomum* à indução hormonal com eLH e eFSH

Naiara C. Motta^{1,2}, Anna Paula C. Scherer², Adalberto Farinasso³,
Daniela O. Brandão³, Jesaias I. Costa⁴, Luis D.S. Murgas⁵

¹Coordenação de Tecnologia e Inovação - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, ²Programa de Pós-Graduação em Aquicultura - Universidade Nilton Lins/INPA, ³Pars Bio Tecnologia Animal LTDA, ⁴Departamento de Ciências Pesqueiras - Universidade Federal do Amazonas ⁵Departamento de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Lavras
E-mail: naiara.motta@inpa.gov.br

Resumo

Apesar da hipófise ser amplamente utilizada na indução hormonal de peixes, suas concentrações de gonadotrofinas são desconhecidas e variáveis, tornando necessária a utilização de hormônios com concentrações definidas para a padronização dos protocolos indutores. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade espermática de *Colossoma macropomum* induzido com extratos hormonais proteicos de origem hipofisária equina. Machos ($7,3 \pm 2,4$ kg; $n = 2$) foram induzidos em dose única com 2,5 mg/kg de extrato bruto de hipófise, utilizado como controle, ou com 120 µg/kg de eLH + 50 µg/kg de eFSH. Após 8 horas, o sêmen foi coletado em três alíquotas distintas para avaliação da qualidade espermática, incluindo volume seminal, taxa de motilidade, duração da motilidade, concentração espermática e produção total de espermatozoides (PTsptz = concentração espermática × volume seminal). Os machos induzidos com eLH + eFSH apresentaram menor volume seminal do que os animais induzidos com hipófise. Entretanto, não foram observadas diferenças para a taxa de motilidade espermática, embora a duração da motilidade tenha sido maior nos animais induzidos com hipófise. Apesar da concentração espermática não diferir entre os tratamentos ($7,9 - 9,9 \times 10^9$ espermatozoides/mL), o menor volume seminal observado após a indução com eLH + eFSH resultou em menor produção total de espermatozoides ($5,0 \pm 0,6 \times 10^9$ espermatozoides) em comparação ao tratamento com hipófise ($11,9 \pm 1,4 \times 10^9$ espermatozoides). Dessa forma, torna-se necessária a quantificação aproximada das concentrações de LH e FSH presentes no extrato bruto de hipófise de carpa, visando melhor aplicação e avaliação dos efeitos de eLH e eFSH na indução hormonal de *C. macropomum*.

Agradecimentos: CNPq

Palavras-chave: hormônio, sêmen, tambaqui.



A melatonina preserva o metabolismo energético do sêmen criopreservado de *Prochilodus lineatus*

Naiara C. Motta¹, Guilherme A.G. Lopes², Bernardo C. Nascimento²,
Maria R.O. Queiroz², Luis D.S. Murgas²

¹Coordenação de Tecnologia e Inovação - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, ²Departamento de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Lavras
E-mail: naiara.motta@inpa.gov.br

Resumo

A criopreservação espermática é uma importante biotecnologia para a aquicultura e conservação de espécies, porém pode causar alterações no metabolismo energético. Nesse contexto, a melatonina vem sendo investigada como estratégia para minimizar os danos induzidos pela criopreservação. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação com melatonina sobre o perfil proteômico do plasma seminal do sêmen criopreservado de *Prochilodus lineatus*. Amostras (n = 9) foram criopreservadas com ou sem suplementação de melatonina (2 mM), utilizando glicose 350 mOsm/kg como diluidor e metilglicol a 10% como crioprotetor. Após o descongelamento, o plasma seminal foi submetido à digestão e à análise por espectrometria de massa. Adicionalmente, amostras de plasma seminal fresco foram analisadas para fins comparativos. Proteínas com aumento ≥ 2 vezes na abundância relativa foram consideradas *upregulated*, enquanto proteínas com redução ≤ 0.5 vezes foram classificadas como *downregulated*. Foram consideradas diferencialmente expressas proteínas com FDR < 0.05 . Na comparação entre descongelado e fresco, observou-se *downregulation* de enzimas do ciclo de Krebs, glicólise e via das pentoses. A análise de enriquecimento GO confirmou a supressão de processos de geração de metabólitos precursores e energia, do metabolismo de piruvato e da fosforilação de nucleosídeo difosfato durante a criopreservação. Em contrapartida, no grupo com melatonina observou-se *upregulation* de proteínas-chave da glicólise e da fosforilação oxidativa, preservando as vias de produção de ATP. O enriquecimento GO neste grupo revelou ativação de processos catabólicos de ácidos carboxílicos e geração de energia, acompanhada de supressão de processos proteolíticos excessivos. Esses resultados demonstram que a criopreservação compromete o metabolismo energético do plasma seminal de *P. lineatus*, enquanto a melatonina atenua esses efeitos ao preservar proteínas-chave envolvidas na produção de energia.

Agradecimentos: FAPEMIG (APQ-01070-18), CNPq (131741/2023-3), CAPES, CEMIG.

Palavras-chave: antioxidante, criopreservação, proteômica.



Resposta espermática de *Colossoma macropomum* à indução hormonal com eLH e eFSH

Naiara C. Motta^{1,2}, Anna Paula C. Scherer², Adalberto Farinasso³,
Daniela O. Brandão^{3,4}, Jesaias I. Costa⁵, Luis D.S. Murgas⁶

¹Coordenação de Tecnologia e Inovação - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, ²Programa de Pós-Graduação em Aquicultura - Universidade Nilton Lins/INPA, ³Pars Biotecnologia Animal LTDA, ⁴Embrapa Semiárido, ⁵Departamento de Ciências Pesqueiras - Universidade Federal do Amazonas, ⁶Departamento de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Lavras
E-mail: naiara.motta@inpa.gov.br

Resumo

Apesar do extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC) ser amplamente utilizado na indução hormonal de peixes, a incerteza e variabilidade no seu conteúdo de gonadotrofinas estimulam a busca por alternativas hormonais que permitam definir concentrações e padronização nos protocolos de indução. Nesse contexto. O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade espermática de *Colossoma macropomum* induzido com extratos hormonais proteicos de origem hipofisária equina (eLH e eFSH). Para isso, machos ($7,3 \pm 2,4$ kg; $n = 2$) foram induzidos em dose única com $2,5$ mg/kg de extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC), utilizado como controle, ou com 120 µg/kg de eLH + 50 µg/kg de eFSH. Após 8 horas, o sêmen foi coletado em três alíquotas distintas para avaliação da qualidade espermática, incluindo volume seminal, concentração espermática, produção total de espermatozoides (PTsptz = concentração espermática $\times$ volume seminal), taxa de motilidade e duração da motilidade. Os extratos equinos eLH + eFSH foram capazes de induzir a espermição, com concentração espermática similar à do controle ($7,9 - 9,9 \times 10^9$ espermatozoides/mL). Entretanto, por terem gerado menor volume seminal, a produção total de espermatozoides ($5,0 \pm 0,6 \times 10^9$ espermatozoides; $0,5$ mL) foi menor ($0,025$) do que o controle ($11,9 \pm 1,4 \times 10^9$ espermatozoides; $1,5$ mL). Não foram observadas diferenças na taxa de motilidade espermática ($86,7 - 90\%$), embora a duração da motilidade do controle (58 s) tenha sido maior ($0,025$) do que no eLH + eFSH (37 s). Os resultados indicam o potencial dos extratos equinos na indução hormonal de *C. macropomum*. Mais estudos de doses e protocolos de seu uso serão necessários, bem como a quantificação aproximada das concentrações de LH e FSH no EBHC, visando assim refinar a avaliação e comparação dos efeitos na indução hormonal de *C. macropomum*.

Agradecimentos: RHAEC-CNPq (Processo 444812/2024-5)

Palavras-chave: hormônio, sêmen, tambaqui.



Efeito do uso do plasma seminal como diluente em espermatozoides criopreservados de *Pseudoplatystoma reticulatum*

Lorena Pacheco da Silva¹, Malbelys Padilla Sanchez¹, Laís Pedroso Borges¹, Stella Indira Rocha Lobato¹, Rosicleire Veríssimo-Silveira¹, Alexandre Ninhaus-Silveira¹

¹Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências de Botucatu (IBB), Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), Botucatu, SP, Brasil

Resumo

Embora essencial para a piscicultura, a criopreservação pode causar danos celulares que reduzem a qualidade seminal. Assim, este trabalho avaliou o efeito do plasma seminal natural e artificial na criopreservação do sêmen de *Pseudoplatystoma reticulatum*. Foram utilizados 8 machos induzidos com EBHC e, após 232 horas/grau o sêmen foi coletado por meio de massagem na região ventral, selecionando animais com motilidade espermática superior a 80%. Os tratamentos utilizados para a criopreservação foram: T1 = 5% de glicose + 10% de metanol; T2 = T1 + 30% de plasma seminal natural; T3 = T1 + 30% de plasma seminal artificial (previamente elaborado). O sêmen foi diluído nesses tratamentos na proporção de 1:5 e congelados 3 cm acima do nitrogênio, em caixa de isopor (10 minutos). O descongelamento foi feito a 37°C (10 segundos). A análise cinética foi feita por meio do sistema CASA, com ativação feita por solução de NaCl 0,45%. Foram feitas análises de fertilização, integridade de DNA e análise de subpopulações espermáticas. Foram feitas análises de média, desvio padrão, normalidade por Shapiro-Wilk, análise de variância (ANOVA de uma via), homocedasticidade por Levene e diferença de tratamentos por Bonferroni. A cinética espermática, apresentou diferença estatística somente para os parâmetros MOT e MP entre T1 e T3. Na fertilização, o controle obteve $76,83 \pm 7,10\%$, sendo o T1 o que obteve maior média com $66,56 \pm 14,59\%$ e não diferiu de T2. A integridade do DNA apresentou menores danos para T2 com $7,99 \pm 2,92\%$ e, o T3 com maior porcentagem ($25,48 \pm 7,27\%$). Foram detectadas três subpopulações (SP), sendo a SP1 caracterizada por rápidos lineares, a SP2 por rápidos não-lineares e a SP3 por lentos lineares. Para ambos os tratamentos, a SP3 foi a que apresentou maior proporção, seguida da SP1 e por fim, da SP2. De acordo com as análises, podemos sugerir que T1 foi o tratamento mais eficaz na criopreservação dos espermatozoides desta espécie.

Este trabalho foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/PROEX) (Nº 88887.302629/2018-00), pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Nº 200452/2022-3) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Nº 2020/15020-0).

Palavras-chave: motilidade, sêmen, siluriformes.



Expressão de Vasa se correlaciona com a abundância de espermatogônias em fases reprodutivas de carácidos amazônicos

Enrique Garcia-Candela^{1,2,3}, Milagros Cabrera-Soregui^{1,2}, Aaron Mondragón-Martínez⁴,
Fernanda de Mello¹, Danilo Streit Jr^{1,5}

¹AQUAM Research Group, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, ²CITE Productivo San Martín, Instituto Tecnológico de la Producción, San Martín, Peru,

³Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de San Martín, San Martín, Peru, ⁴Laboratorio de Parasitología en Fauna Silvestre y Zoonosis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru, ⁵Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil
E-mail: danilo.streit@ufrgs.br

Resumo

Este estudo investigou os padrões de expressão do gene vasa em função das fases reprodutivas em duas espécies de peixes amazônicos economicamente importantes: *Colossoma macropomum* (tambaqui) e *Piaractus brachipomus* (pirapitinga), com implicações para a criopreservação de germoplasma. Espécimes machos foram coletados e classificados em diferentes fases reprodutivas segundo Brown-Peterson et al. (2011). Foram realizadas análises histológicas e qPCR para caracterizar o desenvolvimento testicular e os perfis de expressão de vasa. A análise de fold change demonstrou expressão estritamente gonadoespecífica em ambas as espécies. Na análise por fase reprodutiva, foram detectadas diferenças significativas ($p < 0,001$) que se correlacionaram diretamente com a abundância de espermatogônias. Em *C. macropomum*, a expressão de vasa seguiu o padrão regenerativo > imaturo tardio > imaturo precoce ($F = 19,54$; $p < 0,001$), enquanto *P. brachypomus* apresentou regenerativo > imaturo > apto à desova precoce > apto à desova tardio ($F = 46,88$; $p < 0,001$). O sequenciamento ONT confirmou 100% de identidade para *C. macropomum* e alta similaridade (98,85–98,92%) para *P. brachypomus* com espécies de carácidos relacionadas. A fase regenerativa apresentou maior expressão de vasa em ambas as espécies, fornecendo critérios moleculares claros para a seleção ideal de doadores em aplicações de conservação de germoplasma. Estes resultados estabelecem o vasa como marcador confiável da linhagem germinativa e fornecem dados de referência para implementar biotecnologias reprodutivas nestas espécies aquícolas amazônicas.

Palavras-chave: carácidas amazônicas, criopreservação, espermatogônias.



Ultrassonografia como ferramenta para avaliar o crescimento gonadal de *Prochilodus brevis* (Steindachner 1875) após indução hormonal

Renata Vieira Nascimento¹, Fernanda Vitória Magalhães Mendes¹, Maiana Silva Chaves², Ana Vitória Correia Sales¹, Kamila Teixeira Paula¹, Carmina Sandra Brito Salmito-Vanderley¹

¹Universidade Estadual do Ceará, ²Centro Universitário INTA
E-mail: sandra.salmito@uece.br

Resumo

A reprodução de espécies reofílicas em cativeiro depende de protocolos eficientes de indução hormonal e de métodos seguros para avaliação da maturação gonadal. Entretanto, técnicas convencionais podem causar estresse e comprometer o sucesso reprodutivo. Nesse contexto, a ultrassonografia destaca-se como uma ferramenta não invasiva, permitindo o monitoramento gonadal com menor manipulação e estresse aos animais. O estudo objetivou avaliar o crescimento gonadal de fêmeas de *Prochilodus brevis* submetidas a diferentes indutores hormonais, bem como caracterizar esse processo por meio da ultrassonografia (Mindray Z60vet; sonda multifrequencial de 5-8,5MHz). Foram selecionadas 12 fêmeas, divididas em dois grupos experimentais: G1 induzido com Extrato Hipofisário de Carpa (EHC) e G2 com um análogo de GnRH associado a um inibidor de dopamina (Ovaprim®). Antes e após a indução, foram obtidas imagens ultrassonográficas das gônadas direita e esquerda em projeções longitudinais para mensurar o crescimento ovariano. Observou-se crescimento gonadal em ambos os tratamentos, sem diferença estatística ($P > 0,05$) no tamanho das gônadas. Quanto ao número de ovócitos, o grupo induzido com EHC (G1) apresentou média de 1865 ovócitos/g, enquanto o grupo induzido com Ovaprim® (G2) apresentou 1389 ovócitos/g ($P > 0,05$). Entretanto, o G2 apresentou melhor desempenho reprodutivo, alcançando taxa de fertilização de 78,36%, superior ($P < 0,05$) à observada no G1 (32,22%), evidenciando maior eficiência do Ovaprim® na qualidade reprodutiva de *P. brevis*. Assim, conclui-se que a ultrassonografia é eficiente no acompanhamento do desenvolvimento gonadal, podendo substituir métodos invasivos no manejo reprodutivo. Além disso, o uso do Ovaprim® proporcionou melhores resultados reprodutivos em *P. brevis*, representando uma estratégia promissora para otimizar a reprodução da espécie em piscicultura.

Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Funcap - MC2-0225-00203.01.00/25.

Palavras-chave: Maturação ovocitária, Piscicultura, Reprodução induzida.



Avaliação da morfometria de espermatozoides tratados com colesterol antes da criopreservação

Karine Antunes¹, Thayla Nhevit¹, Illa Carvalho², Elizabeth Moreira²,
Jairo Santos², Elenice Moraes^{1,2}

¹Colegiado de Zootecnia, Universidade Federal do Vale do São Francisco, ²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Vale do São Francisco Instituição,

³Colegiado de Zootecnia, Universidade Federal do Vale do São Francisco
E-mail: karine.antunes@univasf.edu.br

Resumo

A morfometria contribui para a avaliação quantitativa de espermatozoides de peixes teleósteos, sendo uma ferramenta complementar para a avaliação morfológica. Alterações nas estruturas dos espermatozoides influenciam na motilidade, potencial de fertilização, sobrevivência e protocolos de criopreservação. Objetivou-se avaliar o efeito da adição de colesterol carregado pela ciclodextrina (CCC) no sêmen de Curimatã sobre a espermática. Ejaculados de 12 reprodutores, induzidos hormonalmente, subdivididos e tratados com seis diferentes concentrações de CCC (0; 0,5; 1; 2; 3 e 4mg) e diluídos (300mM glicose e 10% DMSO, em água destilada) para a concentração final de 120×10^6 espermatozoides/mL. As amostras foram envasadas em palhetas (0,5ml), seladas e colocadas em botijão Dry shipper por 24h e armazenadas em nitrogênio líquido. A descongelação foi em banho-maria à 60°C/8s. As amostras frescas e descongeladas foram fixadas (1:1000) com solução de formaldeído (37%), e 10µl retirado e corado com 2µl de Rosa Bengala, antes de confeccionar esfregaços para avaliar em microscópio óptico (1000x) acoplado com uma câmera AxioCam (105 color; ZEISS). As análises morfométricas foram realizadas utilizando o módulo de morfometria do software da ZEN 2012 SP2. Os dados submetidos à ANOVA e teste de Tukey ($P < 0,05$). A média dos dados morfométricos de células frescas foram cabeça (comprimento $1,35 \pm 0,03 \mu\text{m}$, largura $1,0 \pm 0,02 \mu\text{m}$, área $37,22 \pm 1,39 \mu\text{m}^2$, perímetro $2,13 \pm 0,04 \mu\text{m}$), peça intermediária $1,25 \pm 0,24 \mu\text{m}$ e flagelo $13,78 \pm 0,54 \mu\text{m}$. As células espermáticas criopreservadas com CCC tiveram maior comprimento ($1,37 \pm 0,01 \mu\text{m}$), largura ($1,23 \pm 0,01 \mu\text{m}$), área ($37,58 \pm 0,44 \mu\text{m}^2$) e perímetro da cabeça ($2,15 \pm 0,01 \mu\text{m}$) vs fresco ($P < 0,05$), e menor peça intermediária ($0,54 \pm 0,02 \mu\text{m}$) e flagelo ($7,84 \pm 0,8 \mu\text{m}$; $P < 0,05$). Adição de colesterol protege a região da cabeça de espermatozoides e estabelecemos valores morfométricos de espermatozoides de *Prochilodus lineatus* fresco e criopreservados.

Agradecimentos: CAPES, CNPq e CODEVAF.

Palavras-chave: Cabeça, Flagelo, Peça intermediária.



Fragmentação do DNA espermático de Curimatã (*Prochilodus lineatus*) tratados com colesterol antes da criopreservação

Karine Antunes¹, Thayla Nhevit¹, Illa Carvalho², Elizabeth Moreira²,
Jairo Santos², Elenice Moraes^{1,2}

¹Colegiado de Zootecnia, Universidade Federal do Vale do São Francisco, ²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Vale do São Francisco Instituição,

³Colegiado de Zootecnia, Universidade Federal do Vale do São Francisco
E-mail: karine.antunes@univasf.edu.br

Resumo

A avaliação da integridade da cromatina é imprescindível para medir os danos causados ao DNA de espermatozoides criopreservados. A adição de colesterol estabiliza a membrana plasmática e reduz danos aos espermatozoides durante a criopreservação. Objetivou-se avaliar o efeito da adição de colesterol carregado pela ciclodextrina (CCC) sobre integridade da cromatina espermática de peixe Curimatã pós-descongelamento. Ejaculados de 12 reprodutores, induzidos hormonalmente, foram colhidos, submetidos a seis diferentes concentrações de CCC (0; 0,5; 1; 2; 3 e 4 mg) e diluídos (300mM glicose e 10% DMSO, em água destilada) para a concentração final de 120×10^6 espermatozoides/mL. As amostras foram envasadas em palhetas (0,5ml), seladas e colocadas em botijão Dry shipper por 24h antes de serem armazenadas em nitrogênio líquido. A descongelamento foi em banho-maria à 60°C/8s. A fragmentação do DNA foi avaliada em esfregaços preparados das amostras descongeladas (10µL) e secos à temperatura ambiente. Depois, fixados em solução de Carnoy's (3:1 etanol:ácido acético) por 1min, imersos em etanol 70% por 3min e submetidos à hidrólise ácida em HCl 4N por 15min. Após lavagem e secagem, os esfregaços foram corados com 50µL de azul de toluidina (0,025% em tampão McIlvaine, pH 4) e avaliadas 500 células/lâmina em microscópio óptico (1000x). Espermatozoides corados em azul claro não apresentam fragmentação do DNA e as coradas de violeta tem elevada fragmentação. Dados foram submetidos à ANOVA e teste Tukey ($P < 0,05$). A fragmentação do DNA não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$), exceto quando comparado ao sêmen fresco que teve menor taxa (15,3%) *versus* descongelados ($P < 0,05$). Dentre os descongelados, os tratados com 1mg de CCC (66,95%) apresentou baixa fragmentação em relação aos que receberam 0mg (82,2%), 0,5mg (84,73%), 2mg (73,73%), 3mg (76,25%) e 4mg (78,8%) de CCC. Adição de colesterol não altera a baixa taxa de fragmentação do DNA de espermatozoides de *P. Lineatus* após a descongelamento.

Agradecimentos: CAPES, CNPq e CODEVAF.

Palavras-chave: Azul de toluidina, Cromatina, Esfregaços.



Descrição do sistema empregado na reprodução semi-natural do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*)

Guilherme Infante Torres¹, Raquel Cristina Braga Pinto², Vinícius Osmar Ferreira Martins Reis³,
Rick Martins Soares⁴, Lucas Yuya Makino⁵, Eduardo Antônio Sanches⁶

¹Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP. ²Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira – FCAVR, Unesp Registro/SP
E-mail: guilherme.i.torres@unesp.br

Resumo

A reprodução semi-natural do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) é uma técnica amplamente utilizada na piscicultura por possibilitar a produção eficiente de ovos e larvas. O presente trabalho teve como objetivo descrever o sistema empregado na reprodução semi-natural da espécie no Laboratório de Aquicultura da UNESP, campus de Registro. O sistema é composto por dois tanques cilíndricos com fundo cônico, sustentados por estruturas metálicas, sendo cada tanque conectado individualmente a uma incubadora cônica com capacidade para 60 litros. O abastecimento de água foi realizado por meio de uma bomba hidráulica conectada a uma caixa d'água com capacidade para 300 litros, responsável pelo fornecimento contínuo de água aos tanques de reprodução. No fundo de cada tanque foi instalada uma rede de malha adequada, permitindo a passagem apenas dos ovos após a desova, enquanto os reprodutores permaneciam retidos no tanque. Foram utilizados reprodutores distribuídos entre os tanques, submetidos à indução hormonal com o hormônio Ovopel®, sendo diluído 1 pellet em 1 mL de solução. As doses aplicadas foram de 0,02 mL por fêmea e 0,01 mL por macho. Após a indução hormonal, os peixes foram mantidos nos tanques para a realização da desova. A saída inferior dos tanques permitiu o escoamento da água e o transporte dos ovos para as incubadoras correspondentes, onde permaneceram sob fluxo contínuo, favorecendo a incubação em ambiente controlado. Como resultado, foi obtido um volume aproximado de 100 mL de ovos, evidenciando a eficiência do protocolo reprodutivo adotado e o adequado funcionamento do sistema. Conclui-se que o sistema de reprodução semi-natural empregado apresentou condições satisfatórias para a reprodução de *Astyanax lacustris*, demonstrando potencial para aplicação em atividades de ensino, pesquisa e produção aquícola.

Palavras-chave: aquicultura, reprodução induzida, sistema de recirculação.



Desenvolvimento de técnicas cirúrgicas para coleta e criopreservação de espermatogônias através de um fragmento de testículo em Jundiá (*Rhamdia quelen*)

**Karel Torres-Lozano^{1,2}, Lais Silva¹, Nathalia Teixeira¹, Rômulo Rodrigues³,
Thaiza Rodrigues⁴, Danilo Pedro Streit Jr^{1,2}**

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brasil, ²AQUAM Research Group, Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brasil,

³Departamento de Zootecnia e Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Brasil; ⁴Aquatic Germplasm and Genetic Resources Center, Louisiana State University Agricultural Center, USA
E-mail: karel.gelina@ufrgs.br

Resumo

A reprodução nos grandes bagres sul-americanos apresenta grandes desafios durante o momento da coleta seminal, relacionado principalmente a anatomia e localização dos testículos, optando-se em algumas espécies pela eutanásia para obter material genético necessário para a reprodução. Diante disso, uma alternativa é a coleta através da abertura da cavidade celomática e excisão de um fragmento de testículo, tomando como modelo experimental o jundiá (*Rhamdia quelen*) e replicando a técnica em peixes Siluriformes. O presente estudo teve como objetivo desenvolver diferentes abordagens cirúrgicas para a obtenção de fragmento de testículo destinados à criopreservação de espermatogônias, como avaliar o fechamento da ferida e a viabilidade celular após descongelamento. Os animais foram distribuídos para comparar a cirurgia com ingresso abdominal, lateral e o grupo controle eutanásia, 2 tipos de fio de sutura (Vicryl e catgut) e dois tipos de pontos (colchoeiro e simples) para os grupos de cirurgia, anestesiados com Propofol (10mg/kg) diluído em água, com dose indutora 2.5mg/L e manutenção 1.5mg/L, conectado a um sistema de aeração para a recirculação da anestesia. O fragmento (2cm) coletado da parte cranial do testículo posteriormente foi criopreservado, no descongelamento, foram testadas duas temperaturas (10°C e 25°C). Foram avaliadas a viabilidade, concentração, e atividade mitocondrial das espermatogônias presente no testículo. Os resultados mostraram que o método de coleta não comprometeu a qualidade celular das espermatogônias após a criopreservação. A temperatura de descongelamento influenciou a viabilidade celular, com melhores resultados a 25°C. A Abordagem abdominal associada ao fio Vicryl e pontos simples apresentou melhor fechamento pós-cirurgia, as informações apresentadas com *R. quelen* como modelo trazem novas alternativas no uso de protocolo cirúrgico em grandes bagres sul-americanos para a coleta e criopreservação de material genético e futura replicação.

Palavras-chave: Cirurgia, criopreservação, espermatogônias.



Adição de melatonina no diluente de sêmen de *Prochilodus lineatus* melhora a morfologia espermática após a descongelação

Brenna Maria Silva de Souza¹, Jairo Jose Santos², Karine Antunes³, Thayla Nhevit³,
Illa Carla Carvalho², Elenice A. MORAES^{2,3}

¹Colegiado de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Vale do São Francisco (Univasf), Petrolina, Brasil,

²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Centro de Pesquisa em Suínos, Espécies Nativas e Silvestres, Univasf, Petrolina, Brasil, ³Colegiado de Zootecnia, Univasf, Petrolina, Brasil

E-mail: brenna.maria@discente.univasf.edu.br

Resumo

As espécies reativas de oxigênio podem comprometer a integridade dos espermatozoides, bem como a morfologia celular durante o processo de criopreservação. A utilização de antioxidantes, associados a capacidade crioprotetora do colesterol, podem minimizar os efeitos oxidativos e diminuir os defeitos espermáticos pós congelação-descongelação. Objetivou-se verificar se a suplementação de 2mM de melatonina (MEL) no diluente de sêmen de Curimatã tratado com 0,5mg de colesterol carreado pela ciclodextrina (CCC) previne os danos morfológicos após criopreservação. Foi utilizado pool dos ejaculados de 3 reprodutores maduros e realizada diluição com diluente básico (DB: 300mM de Glicose + 10% DMSO) para diluição de 120×10^6 espermatozoides/mL. Em seguida, o sêmen foi dividido em tubos e distribuídos nos seguintes tratamentos: T0 (DB), T1 (DB + 2mM de MEL), T2 (DB + 0,5mg de CCC + 2mM de MEL), T3 (DB + 0,5mg de CCC). As amostras foram envasadas em palhetas (0,5ml), seladas e colocadas em botijão Dry shipper por 24h antes de serem imersas e armazenadas em nitrogênio líquido. A descongelação foi em banho-maria à 60°C/8s. As amostras foram fixadas (1:1000) com solução de formaldeído (37%). Depois, em 10µl da amostra fixada foi adicionado 2µl de Rosa Bengala e confeccionados esfregaços que após secagem em temperatura ambiente (~25°C) foram avaliados em microscópio óptico com contraste de fase (1000x) sob óleo de imersão. Em cada lâmina foram contadas 200 células espermática e classificadas as alterações de cabeça (isolada, macrocefalia, microcefalia) e de cauda (enrolada, fortemente enrolada, dobrada e curta). Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk, ANOVA e teste de Tukey ($P < 0,05$). A adição de MEL isolada (12,67%) ou associada ao CCC (8,0%) aumentou a taxa de espermatozoides com morfologia normal ($P < 0,05$). A adição isolada de MEL ao DB diminuiu a ocorrência de defeito de cabeça isolada (20,0%) quando comparado ao T0 (52,67%), T2 (48,67%) e T3 (60,33%) ($P < 0,05$). Não houve efeito sobre os parâmetros ($P > 0,05$). Adição de 2 mM de melatonina em meio diluente de *P. lineatus* aumenta a taxa de preservação de células normais e reduz da porcentagem de cabeça isolada após a criopreservação.

Agradecimentos: CAPES, CNPq e CODEVAF.

Palavras-chave: Cauda, Defeitos, Dry shipper, Peixe, Piscicultura.



Efeito dos frames e do tempo pós-ativação na cinética espermática de truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*

Vinicius Mecca Zabotto¹, Julia Pohl Altafin¹, Arno Juliano Butzge¹, Eduardo Antônio Sanches^{1,2}

¹Centro de Aquicultura da Unesp-CAUNESP, Jaboticabal/SP, ²Departamento de Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Faculdade de Ciências

Agrárias do Vale do Ribeira FCAVR-UNESP, Registro/SP

E-mail: v.zabotto@unesp.br

Resumo

As análises espermáticas vêm sendo cada vez mais utilizadas na reprodução de peixes, destacando características capazes de otimizar recursos na piscicultura. Para a avaliação dos espermatozoides, são utilizados softwares como o ImageJ/CASA, que permitem avaliar parâmetros cinéticos espermáticos, tornando necessária a caracterização individual de cada espécie. Nesse contexto, o objetivo foi avaliar o efeito da quantidade de frames e do tempo de análise pós-ativação sobre os parâmetros espermáticos de *Oncorhynchus mykiss* utilizando o ImageJ/CASA. Foram utilizados 16 machos adultos para coleta de sêmen. Amostras contendo 1 µL de sêmen, ativadas com 400 µL de solução ativadora (0,01% NaHCO₃), foram dispostas em câmara de Neubauer, cobertas com lamínula e avaliadas em microscópio trinocular (10x) com câmera de 100 fps. Os vídeos de cada macho, em triplicata, foram convertidos em sequências de imagens para avaliação individual das células no CASA. Foram avaliados 25, 50, 75, 100, 150, 200 e 300 frames, correspondentes a 0,25 s, 0,50 s, 0,75 s, 1,0 s, 1,5 s, 2,0 s e 3,0 s de vídeo. O tempo foi avaliado aos 5, 10, 15 e 20 segundos. Foram avaliados os parâmetros MOT, VSL, VAP e VCL. A quantidade de frames foi submetida à regressão segmentada para determinação do breakpoint ($Y = \beta_0 + \beta_1 X + \beta_2 (X - c)I(X > c)$). O tempo pós-ativação foi analisado por ANOVA de efeitos principais a 5% de significância e teste de Tukey. A regressão segmentada indicou breakpoint para VSL em 82,32 frames, enquanto para MOT, VAP e VCL, não houve efeito significativo da quantidade de frames, sendo observada estabilização próxima de 75 frames. O tempo de análise pós-ativação apresentou efeito significativo sobre todos os parâmetros avaliados, com redução progressiva dos parâmetros entre os tempos avaliados. Recomenda-se realizar a análise aos 5 s após a ativação, utilizando sequências de 100 frames (1 s de vídeo), permitindo maior fidelidade na análise dos parâmetros de *O. mykiss*.

Apoio financeiro: CAPES – Processo nº 88887.955797/2024-00.

Palavras-chave: Reprodução de peixes, CASA, Cinética espermática.



Efeito de diferentes ativadores sobre a cinética espermática de *Colossoma macropomum* e *Piaractus brachypomus*

Clara Helena B. Valadares¹, Adrielly B. Barros¹, Janaína S.I. Valandro², Lucas Simon Torati³,
Alexandre Nizio Maria⁴, Luciana N. Ganeco-Kirschnik³

¹Centro Universitário Católica do Tocantins, ²Centro de Aquicultura da UNESP; ³Embrapa Pesca e Aquicultura,

⁴Embrapa Tabuleiros Costeiros
E-mail: luciana.ganeco@embrapa.br

Resumo

A escolha do ativador espermático influencia diretamente a eficiência da fertilização artificial em peixes, afetando a cinética espermática após a ativação. O objetivo deste estudo foi comparar os efeitos de diferentes ativadores sobre a cinética espermática do tambaqui (*C. macropomum*) e da pirapitinga (*P. brachypomus*). Foram utilizados oito machos de tambaqui e cinco de pirapitinga induzidos à espermiacção com extrato bruto de hipófise (2,5 mg kg⁻¹). O sêmen fresco foi analisado por sistema CASA utilizando dH₂O, glicose 2,5%, NaCl 1,05% e NaHCO₃ 1,05%, na proporção de 1:1000 (sêmen:ativador). Em ambas as espécies, a glicose e a dH₂O promoveram as maiores taxas de motilidade inicial, superiores a 80% aos 10 segundos pós-ativação. A velocidade curvilínea também foi superior nesses ativadores, atingindo cerca de 165 e 142 µm s⁻¹ no tambaqui e na pirapitinga, respectivamente. No tambaqui, a glicose apresentou o melhor desempenho, mantendo motilidade superior a 70% até aproximadamente 40 segundos após a ativação. Na pirapitinga, embora a redução da motilidade tenha ocorrido mais rapidamente, a glicose também promoveu melhor sustentação da motilidade, mantendo cerca de 40% de células móveis aos 30 segundos, valor aproximadamente duas vezes superior ao dos demais ativadores. Os ativadores salinos apresentaram os menores valores de motilidade desde os primeiros instantes pós-ativação. O NaHCO₃ apresentou osmolaridade próxima à do sêmen fresco, enquanto meios mais hipotônicos favoreceram ativação mais eficiente. Os resultados indicam que a glicose apresenta elevado potencial como ativador espermático para ambas as espécies. Em *C. macropomum*, promoveu maior persistência da motilidade ao longo do tempo, enquanto em *P. brachypomus* proporcionou melhor sustentação da motilidade em comparação aos demais ativadores. Dessa forma, a glicose se destaca como alternativa promissora para otimização da fertilização artificial de peixes nativos.

Agradecimentos: BNDES - Projeto BRSAqua.

Palavras-chave: Reprodução; sêmen; ativadores



Caracterização seminal e criopreservação do sêmen de Jundia, *Leiarius marmoratus*.

Kayode Timothy Ogundeji¹, Carmen Fila Zeca Manjate², Lorena Pacheco da Silva³,
Rosicleire Verissimo-Silveira⁴, Alexandre Ninhaus-Silveira⁵

¹ LINEO – Laboratório de Ictiologia Neotropical, Depto. de Biologia e Zootecnia, UNESP/FEIS –
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Ilha Solteira
E-mail: kt.ogundeji@unesp.br

Resumo

A produção sustentável de peixes requer avanços contínuos nas biotecnologias reprodutivas, incluindo programas de melhoramento genético, criopreservação de gametas e estabelecimento de bancos de germoplasma. Este estudo teve como objetivo desenvolver um protocolo de criopreservação de sêmen para *Leiarius marmoratus*. Machos sexualmente maduros foram induzidos hormonalmente utilizando uma dose dupla de extrato de hipófise de carpa (EHC), composta por uma dose preparatória inicial de 1 mg kg⁻¹ de peso corporal, seguida por uma dose resolutive de 2 mg kg⁻¹ de peso corporal. O sêmen foi coletado e diluído na proporção 1:5 (sêmen:crioprotetor) utilizando duas soluções crioprotetoras: tratamento 1, contendo 10% de metanol, 5% de glicose e 10% de gema de ovo; e tratamento 2, contendo 10% de metanol e 100 mM de trealose. As amostras foram acondicionadas em palhetas de 0,5 mL, congeladas em vapor de nitrogênio e armazenadas em nitrogênio líquido a -196 °C. Após o descongelamento, foram avaliados a cinética espermática, a morfologia e a integridade da membrana plasmática dos espermatozoides. A motilidade espermática total diferiu significativamente entre os tratamentos ($P < 0,05$) com o sêmen fresco (controle), apresentando maior motilidade ($76,5 \pm 7,8\%$) em comparação aos espermatozoides criopreservados nos tratamentos 1 ($37,8 \pm 7,46\%$) e 2 ($29,4 \pm 0,71\%$). Não foi observada diferença significativa entre os dois tratamentos crioprotetores. A morfologia espermática normal foi significativamente afetada pela criopreservação ($P < 0,05$). O sêmen fresco apresentou maior porcentagem de espermatozoides normais ($62,4 \pm 6,86\%$), quando comparado aos tratamentos 1 ($23,0 \pm 2,74\%$) e 2 ($22,2 \pm 4,59\%$), sem diferença significativa entre os tratamentos crioprotetores. A integridade da membrana plasmática também apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$), sendo maior no sêmen fresco em comparação ao sêmen criopreservado nos dois tratamentos. Não houve diferença significativa entre os tratamentos 1 e 2. Esses resultados indicam que os protocolos criogênicos testados não foram efetivos para a manutenção da qualidade dos espermatozoides criopreservados e que, adição de trealose não melhorou a qualidade espermática pós-descongelamento em comparação ao crioprotetor à base de glicose.



Acompanhamento gestacional via ultrassonografia em Tralhoto, *Anableps anableps*, sob cuidados profissionais: Relato de caso

**Thays Elena Caneloi¹, Edilene Segovia Brandli², Juliana Almeida Formagio³,
Daniel Vereza Segalot⁴, Renata Felippi Ardanaz⁵**

¹Médica veterinária, Oceanic Aquarium, ²Tratadora de animais, Oceanic Aquarium, ³Gerente de operações técnicas, Oceanic Aquarium, ⁴Tratador de animais, Oceanic Aquarium, ⁵Responsável Técnica, Oceanic Aquarium
E-mail: mvthayscaneloi@gmail.com

Resumo

A literatura acerca da fisiologia gestacional em peixes vivíparos é limitada, bem como os métodos disponíveis para diagnóstico e acompanhamento da gestação. Este trabalho descreve o primeiro registro científico de reprodução e utilização da ultrassonografia para diagnóstico e monitoramento gestacional e embrionário, em *Anableps anableps* mantida sob cuidados *ex situ* no Oceanic Aquarium, Bal. Camboriú, SC. A fêmea, 22cm; 87,5g, após apresentar comportamento reprodutivo, passou por avaliações físicas e ultrassonografias seriadas. Foram realizados 5 exames entre janeiro e fevereiro de 2025. O recinto possuía volume de 600litros, filtragem mecânica, biológica e química, circulação auxiliar com parâmetros mantidos em temperatura média de 25°C, pH 7,5 e salinidade de 8ppt. No primeiro exame, 09/01, observou-se vesícula gestacional contendo pelo menos 3 fetos viáveis, com diferenciação entre crânio e corpo e motilidade preservadas. Em 28/01, verificou-se evolução fetal, com desenvolvimento corporal mais evidente, movimentos branquiais coordenados e atividade cardíaca preservada. Em 06/02, os fetos apresentavam maior desenvolvimento osteocartilaginoso e sistema ósseo-articular evidente. Em 13/02, foram identificados pelo menos dois fetos viáveis, sendo um significativamente maior e mais ativo. No último exame, 20/02, observou-se manutenção da atividade cardíaca, desenvolvimento fetal contínuo e estruturas ósseas preservadas. Após, a fêmea foi transferida para maternidade anexa ao sistema principal. O parto ocorreu em 06/03/2025, resultando em dois filhotes natimortos e um filhote viável, com 4,3cm e 1,8g, sem intercorrências maternas. A ultrassonografia mostrou-se eficiente para avaliação do desenvolvimento fetal e monitoramento da viabilidade embrionária, permitindo identificar evolução anatômica, atividade cardíaca e diferenças comportamentais entre os fetos. Além de subsidiar o manejo clínico, possibilitou a adoção de medidas preventivas antes do parto.

Palavras-chave: Anablepidae, reprodução, ultrassonografia



Criopreservação seminal por 14 anos preserva a motilidade total, mas altera o padrão cinético espermático em tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Alexandre Nizio Maria¹, Hymerson Costa Azevedo², Paulo Cesar F. Carneiro³

^{1,3}Embrapa Tabuleiros Costeiros
E-mail: alexandre.maria@embrapa.br

Resumo

A criopreservação de sêmen constitui uma ferramenta estratégica para conservação genética, programas de melhoramento e manutenção de bancos de germoplasma. Entretanto, ainda são escassas as informações sobre os efeitos da criopreservação de longo prazo na qualidade espermática de peixes. Objetivou-se avaliar a estabilidade da cinética espermática do sêmen criopreservado de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após diferentes períodos de armazenamento em nitrogênio líquido. As amostras foram obtidas dos mesmos machos, congeladas e avaliadas após aproximadamente 1, 6 e 14 anos de armazenamento por meio do sistema computadorizado SCA® (Microptic). Foram analisadas variáveis de motilidade, velocidade e trajetória espermática. Os dados foram submetidos a modelos lineares mistos, considerando o tempo de armazenamento como efeito fixo e o animal como efeito aleatório, seguido pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). A motilidade total permaneceu estável durante todo o período de armazenamento (66,1; 63,8 e 64,9% para 1, 6 e 14 anos, respectivamente; $P > 0,05$). Entretanto, a motilidade progressiva aumentou após 14 anos (43,1%) em relação aos períodos de 1 e 6 anos (~30%; $P < 0,05$). Houve aumento de VCL, VSL, VAP, LIN, STR e WOB, acompanhado de redução da amplitude lateral da cabeça (ALH), indicando uma alteração coordenada do padrão cinético com maior linearização da trajetória espermática. A frequência do batimento flagelar cruzado não foi alterada. Conclui-se que a criopreservação seminal por até 14 anos mantém a motilidade total dos espermatozoides de tambaqui, mas está associada a modificações no padrão cinético dessas células, caracterizadas pelo aumento da progressividade e da linearidade, associado à redução da amplitude lateral da cabeça, sugerindo uma reorganização da dinâmica de movimento durante o armazenamento prolongado.

Palavras-chave: banco de germoplasma, criobiologia, reprodução de peixes.



Cinética e concentração espermática de espermatozoides de Jundiá (*Rhamdia quelen*) coletados por gonadectomia parcial

Vinicius Reis¹, Karel Torres-Lozano^{3,4}, Rick Soares¹, Eduardo Antônio Sanches^{1,2}, Streit Jr, D.P^{3,4}

¹Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira (FCAVR), Câmpus de Registro, Registro – SP, Brasil, ²Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Centro de Aquicultura (CAUNESP), Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal – SP, Brasil, ³Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – (UFRGS), ⁴Grupo de Pesquisa Aquam, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – (UFRGS)
E-mail: martins.reis@unesp.br

Resumo

A produção de peixe requer de um desenvolvimento mais sustentável. Motivo pelo qual, o cultivo de peixes precisa da implementação de novas alternativas para a coleta de material genético, mediante a cirurgia exploramos uma nova ferramenta minimamente invasiva para a coleta de sêmen conservando o reprodutor e a capacidade de fecundação dos espermatozoides. O presente estudo tem como objetivo analisar a cinética e concentração espermática dos espermatozoides de Jundiá coletados através de gonadectomia parcial. Foram selecionados aleatoriamente 7 machos, posteriormente anestesiados com Propofol (Propovan® - 10mg/kg) diluído em água do tanque, com uma dose de indução 2.5mg/L e outra dose de manutenção 1.5mg/L. Conectado a um sistema de aeração 220L/h, para a recirculação da anestesia. A operação foi realizada com o auxílio de uma esponja para suporte, juntamente com uma caixa de tampo furado contendo 1,5L de água e anestésico. A incisão foi desenvolvida na linha alba do abdômen do animal com extensão variando de 1 a 1.5cm, o fragmento foi coletado do ápice do testículo direito, seguido de uma sutura com pontos simples para fechamento da ferida cirúrgica. O fragmento do testículo foi armazenado e diluído em uma solução de Glicose 5% (1g:1μL) baseando-se no peso. Para a análise espermática através do sistema computadorizado CASA, a concentração espermática foi calculada fixando-se em Formol Salino Tamponado 4,6% diluído nas proporções (1:1000) obtendo uma concentração (3,04E+10±2,83E+09) de células. A análise dos parâmetros cinéticos resultou em (MOT) 57,85±9,64, (VAP) 96,29±3,23, (VSL) 66,31±2,55, (VCL) 62,56±2,37, (PROG) 94,36±0,25, (STR) 68,87±0,88, (WOB) 987,17±37,88 e (BCF) 37,04±0,49. O procedimento foi eficiente para a obtenção de células espermáticas com qualidades de reprodução satisfatórias para procedimento de reprodução artificial.

Palavras-chave: Cinética espermática, Concentração seminal, Gonadectomia.



Criopreservação espermática de *Rhamdia spp.* em criotubos

Josiane Emanuela Hörz¹, Ramon Veloso Braga², Alexandra da Silva Barroso¹,
Guilherme Infante Torres², Raquel Cristina Braga Pinto², Eduardo Antônio Sanches^{1,2}

¹Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - CAUNESP, Jaboticabal/SP,

²Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira – FCAVR, Unesp Registro/SP

E-mail: josiane.horz@unesp.br

Resumo

O sucesso da criopreservação espermática depende da manutenção da qualidade e da capacidade fecundante dos espermatozoides após o congelamento. Portanto, neste estudo objetivou-se avaliar a eficácia da criopreservação espermática de *Rhamdia spp.* em palhetas de 0,25 mL e criotubos de 2 e 5 mL, sob delineamento inteiramente casualizado (cinco machos como repetição; três machos como controle (sêmen fresco), para fecundação de oócitos de três fêmeas). O sêmen foi diluído (1:3) em meio com 5% frutose, 5% leite em pó e 10% metanol, envasado e armazenado em *dry shipper* (2 h) e nitrogênio líquido (72 h). Após descongelado (25 °C) o sêmen foi diluído (1:20) em solução extensora de NaCl (1%) e analisado quanto à concentração, morfologia, integridade de membrana e parâmetros cinéticos (CASA/ImageJ) e em seguida aplicado para a fecundação (70.000 espermatozoides/oócito) para aferição da capacidade fecundante (fertilização e eclosão). Verificou-se seguintes resultados: MOT foi maior no controle (57,75%) e na palheta (30,99±15,83%) em relação a 5 mL (22,81±14,67%); VCL, VAP, VSL, STR, WOB, PROG e BCF não diferiram entre os tratamentos ($p>0,05$). Na morfologia, cabeça solta, gota distal, cauda enrolada e cauda quebrada diferiram entre tratamentos ($p<0,05$), com piores índices na palheta e no 2 mL frente ao controle. A integridade de membrana foi menor em todos os grupos criopreservados que no controle (56,8±13,3%; $p<0,05$), sem diferença entre palheta, 2 mL e 5 mL. As taxas de fertilização e eclosão ($p>0,05$) não diferiram entre controle, palheta, 2 mL e 5 mL. Conclui-se que a criopreservação espermática em palhetas e criotubos de 2 e 5 mL é viável, mantendo capacidade fecundante, fertilização e eclosão semelhantes às observadas com sêmen fresco, apesar das alterações observadas em alguns parâmetros espermáticos.

Palavras-chave: Conservação de sêmen, Jundiá, Qualidade espermática.