



## **Embriotoxicidade de crioprotetores em temperatura ambiente e resfriada em *Danio rerio* (Zebrafish)**

*Criotoxicity in *Danio rerio* (zebrafish) embryos in ambient and freezing temperatures*

**Olivia Basso Rocha<sup>1</sup>, Larise Caroline Oliveira Lima<sup>2</sup>, Carolina Costa M. Araújo<sup>3</sup>,  
Leidiane Ferreira Gonçalves<sup>4</sup>, Mônica Rodrigues Ferreira Machado<sup>4,\*</sup>**

<sup>1</sup>Programa de pós Graduação em Biociência Animal, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil; <sup>2</sup>Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil; <sup>3</sup>Graduanda de Biomedicina, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil; <sup>4</sup>Graduanda de Biomedicina, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil; <sup>5</sup>Professora do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil.

\*E-mail: monica\_rodrigues@ufg.br

A criopreservação de embriões de peixe ainda é uma biotecnologia não desenvolvida por diversos fatores. O tamanho do embrião e sua multicompartmentalização com membranas semi-permeáveis atrapalham a penetração do crioprotetor. Vários trabalhos indicam toxicidade dos crioprotetores durante o processo de resfriamento, porém não levam em conta tempo de exposição nem taxa de mortalidade antes da criopreservação. Assim o objetivo deste trabalho foi determinar a toxicidade dos crioprotetores DMSO, metanol, glicerol e etilenoglicol em temperatura ambiente e resfriada, durante 96 horas de exposição. Para a toxicidade em temperatura ambiente foram seguidos os padrões da OECD, o qual indica a alocação dos embriões de *Danio rerio* (zebrafish) em placas de 96 poços. Foram realizadas diluições seriadas dos crioprotetores, sendo que a maior concentração era de 50% (diluição 1 de crioprotetor: 1 E3), caindo pela metade até 0,02%. Para a toxicidade em temperatura ambiente os embriões foram alocados em incubadoras com oxigenação constante. Os embriões foram alocados em temperatura ambiente e posteriormente as incubadoras foram alocadas em geladeira, para resfriamento lento, na velocidade de 1,25°C/min. A avaliação embrionária foi realizada nas fases de 30% de epibolia (blástula), 50% epibolia (gástrula), fechamento de blastóporo, 24 horas pós fertilização (hpf), 48 hpf, 72 hpf e 96 hpf. Durante as avaliações os embriões foram caracterizados como vivo ou morto, além de serem avaliadas as alterações teratogênicas. As comparações foram realizadas utilizando crioprotetores a temperatura ambiente x controle negativo; crioprotetores a temperatura resfriada x controle negativo e crioprotetores a temperatura resfriada x crioprotetores a temperatura ambiente. Em temperatura ambiente houve 100% de mortalidade em concentrações acima de 25% já na fase de blástula, enquanto na fase de fechamento de blastóporo concentrações acima de 6,25% promoveram mortalidade de 100%, independente do crioprotetor. Em fechamento de blastóporo todos os crioprotetores. Os gráficos em probit para temperatura ambiente apresentaram alta dispersão demonstrando que todos os crioprotetores apresentam toxicidade alta independente da concentração ou tempo de exposição. Em temperatura resfriada a embriotoxicidade foi dose tempo dependente, ou seja concentrações abaixo de 3,2% são mais tóxicas conforme aumenta o tempo de exposição, independente do crioprotetor. Em temperatura ambiente o DMSO e o etilenoglicol foram os crioprotetores que apresentaram as maiores concentrações letais 50 (CL50), indicando que sua toxicidade é menor, quando comparados com o metanol e glicerol. Porém em temperatura resfriada o etilenoglicol e o metanol apresentam maior CL50. Assim concluímos que para utilização de protocolos nos quais os embriões permanecerão em temperatura ambiente, por um período de tempo, são indicados o DMSO ou etilenoglicol, em concentrações de 3,2%. Quanto menor for o tempo de exposição ao crioprotetor, maior a concentração utilizada.

**Palavras-chave:** criopreservação, *Danio rerio*, crioprotetores.

**Key words:** *criopreservation, Danio rerio, cryoprotectors.*



## **Prueba de diluyentes para el semen de pescado blanco de Pátzcuaro *Chirostoma estor* (Atherinopsidae)**

*Diluent test for Mexican Pike silverside semen Chirostoma estor (Atherinopsidae)*

**Gilmara Junqueira Machado<sup>1,\*</sup>, Carlos Cristian Martínez Chávez<sup>2</sup>, Carlos Antonio Martínez Palacios<sup>2</sup>, Luis David Solis Murgas<sup>1</sup>, Mariana Martins Drumond<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Universidad Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil; <sup>2</sup>Laboratorio de Biotecnología Acuícola y Acuicultura del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México; <sup>3</sup>Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

\*E-mail: gilmarajunquera@gmail.com

*Chirostoma estor* es una especie nativa de pez de agua dulce que pertenece a la familia Atherinopsidae. Esta especie endémica del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México ha sido base de importantes pesquerías artesanales y presenta alta demanda en el mercado. Sin embargo, en la actualidad, la contaminación, la eutrofización, el azolvamiento de los cuerpos de agua y la sobreexplotación pesquera han conducido a una reducción de sus poblaciones. La acuicultura ha sido la alternativa más viable para la especie, ya que ha logrado cerrar su ciclo de vida en cautiverio. No obstante, todavía hay pocos estudios que evalúan los parámetros reproductivos de pez blanco. Algunos estudios demuestran que la calidad seminal de pez blanco en cautiverio no es satisfactoria y su producción seminal es muy baja (120µl a 41µl). Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la calidad del semen de reproductores adultos de *C. estor* mediante la utilización de diferentes diluyentes. Se utilizaron machos sexualmente maduros de *C. estor*, con peso corporal entre 56 - 30g y talla entre 16.0 – 13.4cm de longitud, del Laboratorio de Biotecnología Acuícola y Acuicultura del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF-UMSNH). Los peces se anestesiaron (aceite de clavo) y la colección del semen se procedió mediante una leve presión cráneo caudal en la región de la papila urogenital. Inmediatamente después de la colección (n=2), el semen fue almacenado en micro tubos, en caja de hielo, y se iniciaron las evaluaciones de motilidad y su duración. En secuencia, se hizo la colección (n=5) para la prueba de diluyentes (n=5), siendo ellos, solución salina (NaCl -30%, 40%, 60% y 65%) y BTS® - *Beltsville Thawing Solution* (5%, 15%, 30%, 40% y 50%). Después de la colección se mezcló el semen con los diferentes diluyentes (1µl semen para 50µl de diluyente) en micro tubos, se mantuvo en caja de hielo, y se hizo la evaluación de la motilidad espermática. En las evaluaciones de motilidad y duración de la motilidad, el semen se activó con el agua del estanque de cultivo. Para el tiempo de almacenamiento, se observó que el semen de pez blanco inmediatamente después de la colección presentó motilidad de 100% y duración de 22 segundos. Sin embargo, a lo largo de 10-15 minutos la motilidad baja para valores próximos de 30%. Este resultado demuestra que el semen de pez blanco presenta un tiempo muy corto de almacenamiento, requiriendo de una mayor agilidad en los procedimientos de manipulación de la reproducción en cautiverio. Todos los diluyentes, en sus diferentes concentraciones, causaron la muerte de las células espermáticas, siendo que después de la mezcla del semen con el diluyente se observó motilidad de 0%. Con excepción del diluyente BTS 5%, el cual se obtuvo una activación de las células espermáticas, inmediatamente después de la mezcla del semen con el diluyente, con motilidad de 30%. En el semen con BTS 5% y activado con agua, se obtuvo una motilidad de 50%. Por lo tanto, el BTS puede ser un buen diluyente de semen para el pez blanco.

**Palavras chave:** *Chirostoma estor*, semen, diluyente, motilidad espermática.

**Keywords:** *Chirostoma estor*, semen, diluent, sperm motility.

## **Idade de reprodutores de *Danio rerio* e sua influência sobre a taxa de reprodução**

*Age and its interference over breeding rate of *Danio rerio**

**Ayate Belarmina Machado<sup>1</sup>, Kamila Oliveira Santana<sup>1</sup>, Larise Caroline Oliveira Lima<sup>1</sup>, Mônica Rodrigues Ferreira Machado<sup>2,\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil; <sup>2</sup>Professora do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil.

\*E-mail: monica\_rodrigues@ufg.br

O Zebrafish (*Danio rerio*) vem substituindo a utilização de camundongos e outros modelos experimentais em diversos tipos de estudos, podendo produzir um grande número de ovos fertilizados diariamente. Dentre as vantagens de sua utilização estão o ciclo reprodutivo contínuo e sua maturidade sexual precoce que ocorre dentro de três meses de idade. Assim pretendeu-se, analisar a viabilidade embrionária e sua relação com a idade dos reprodutores de zebrafish. Para tanto foram utilizados duas famílias de reprodutores com um ano de diferença entre cada, F1 (um ano e meio) e F2 (seis meses), mantidos no Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia em peixes (LaBFish). Para a reprodução os peixes eram alocados em um aquário com divisórias separando os machos das fêmeas de forma que compartilhassem a mesma água, porém não se misturassem. A divisória era retirada no início da manhã seguinte, sendo que os reprodutores eram mantidos juntos durante 2 horas. Os embriões foram posteriormente coletados e colocados em placas de petri preenchidas com E3 para avaliação em microscópio de luz quanto à viabilidade. Foram feitas 18 reproduções para cada família, usando a proporção de dois machos para cada fêmea. Na F1, mais velha, foram obtidos 4630 embriões, dos quais 79,65% eram viáveis, 10,5% intermediários e 9,85% ruins. Na F2, mais jovem, foram obtidos 5373 embriões dos quais 92,74% eram viáveis, 5,14% intermediários e 2,12% ruins. Por comparação dos resultados obtidos pode-se observar que na F2 a quantidade e a qualidade embrionária foi superior à de F1. Esses dados indicam que a idade dos reprodutores pode afetar a taxa de reprodução, sendo que reprodutores mais velhos produzem uma quantidade menor de embriões cuja viabilidade também é inferior. Pela observação dos aspectos analisados, a reprodução com peixes de idade mais avançada deve ser evitada, principalmente se forem realizados testes de embriotoxicidade. Para que a quantidade de embriões não seja prejudicada deve-se fazer o controle da idade dos reprodutores e o descarte dos mesmos quando começarem a envelhecer. Para tanto, pode-se fazer uso de uma planilha ou caderno em que se possa registrar os dados de reprodução de cada família e em seguida analisar quando esta começar a se tornar inviável.

**Palavras-chave:** zebrafish, reprodução, idade, viabilidade.

**Keywords:** zebrafish, breeding, age, viability.

**Caracterização do fluido ovariano de *Prochilodus lineatus***  
*Characterization of *Prochilodus lineatus*' ovarian fluid*

**Renata Catão Egger<sup>1,\*</sup>, Naiara Cristina Motta<sup>2</sup>, Gilmara Junqueira Machado<sup>3</sup>,  
Pollyana Haddad Siqueira<sup>2</sup>, Arthur Silva Castro<sup>1</sup>, Luis David Solis Murgas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, Brasil;

<sup>2</sup>Departamento de Zootecnia, UFLA, Lavras, MG, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Biologia, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

\*E-mail: recataoegger@gmail.com

O fluido ovariano (FO) promove estabilidade do microambiente no qual os oócitos se encontram e pode influenciar na capacidade de fertilização espermática. Sua composição varia entre as espécies de peixes, podendo diferir entre fêmeas da mesma espécie, e o conhecimento de seus constituintes pode auxiliar na otimização das técnicas de manejo reprodutivo de peixes. Dessa forma, este trabalho buscou caracterizar a composição do FO de *Prochilodus lineatus*, que é uma espécie considerada modelo biológico em estudos aplicados a peixes neotropicais. Para coleta do FO, os animais foram selecionados de tanques escavados da Estação de Piscicultura da Companhia Energética de Minas Gerais S.A. (CEMIG), Itutinga, MG, Brasil, no período reprodutivo 2018/2019. A desova de seis fêmeas foi coletada após indução hormonal com duas doses de extrato bruto de hipófise (0.5 mg/kg e 5 mg/kg de peso corporal, intervalo de 12h) por meio de leve massagem no sentido anteroposterior. Imediatamente após a coleta, cada desova teve seu pH aferido utilizando-se um pHmetro de bancada (MS TecnoPON). Em seguida, uma amostra da desova foi coletada e armazenada em tubo Falcon mantido sob refrigeração (4 °C) até análise (realizada em até 1h após a coleta). Cada amostra (5 mL) foi individualmente transferida para um becker equipado com malha de 0,5 mm, de modo que o FO fosse filtrado, sendo separado dos oócitos. Uma lavagem de cada amostra foi realizada utilizando-se 5 mL água miliQ, visando otimizar a separação do fluido ovariano. A osmolalidade do FO foi determinada por meio de um osmômetro de pressão de vapor (Wescor), a concentração dos íons Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> foi quantificada por meio de um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), e a concentração de proteína foi mensurada pelo método ultravioleta por um espectrofotômetro (NanoVue Plus GE). As análises de cada amostra foram realizadas em duplicata (média ± desvio padrão). O FO apresentou pH 7,5 ± 0,05, osmolalidade de 326,42 ± 44,93 mOsm/kg e proteína total 9820,83 ± 2861,85 µg/mL. O íon K<sup>+</sup> foi o mais presente no FO (40,01 ± 13,88 mmol/L), seguido pelo Na<sup>+</sup> (19,04 ± 6,65 mmol/L) e pelos íons Mg<sup>2+</sup> e Ca<sup>2+</sup> (2,99 ± 1,06 e 2,51 ± 1,44 mmol/L). O FO de *P. lineatus* apresentou pH neutro a alcalino, sendo levemente ácido em relação ao FO de salmonídeos (8,0-8,8) e cirprinídeos (8,83-9,07). A concentração iônica encontrada também difere dessas duas famílias de peixes, visto que no FO de *P. lineatus* o íon mais presente foi o K<sup>+</sup> e em salmonídeos e cirprinídeos o íon Na<sup>+</sup> prevalece. A caracterização do FO de *P. lineatus* possibilitará que um microambiente ideal seja desenvolvido em estudos futuros para fertilização artificial e para criopreservação de oócitos, embriões e sêmen desta espécie.

**Palavras-chave:** composição, desova, peixe.

**Keywords:** composition, spawning, fish.

## Embriotoxicidade ao etanol em embriões de *Danio rerio*

*Ethanol embryotoxic in Danio rerio embryos*

**Larise Caroline Oliveira Lima<sup>1</sup>, Carolina Costa Maia Araújo<sup>2</sup>, Leidiane Ferreira Gonçalves<sup>3</sup>, Gabriel Costa de Freitas<sup>4</sup>, Luana Grazielle Oliveira Silva<sup>5</sup>, Lorranny Pereira de Assis Valadares<sup>6</sup>, Monica Rodrigues Ferreira Machado<sup>7,\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduanda de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Jataí; <sup>2</sup>Graduanda de Biomedicina - Universidade Federal de Jataí; <sup>3</sup>Graduanda de Biomedicina - Universidade Federal de Jataí; <sup>4</sup>Graduando de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Jataí; <sup>5</sup>Graduanda de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Jataí; <sup>6</sup>Mestranda do Programa de Biociência Animal - Universidade Federal de Jataí; <sup>7</sup> Professora do Instituto de Biociências - Universidade Federal de Jataí.

\*E-mail: monica\_rodrigues@ufg.br

O etanol (ETOH) é considerado uma das substâncias psicotrópicas mais utilizadas no mundo, além de encontrar-se presente nas diluições de vários fármacos. Considerado uma neurotoxina, afeta a embriogênese, a migração e a diferenciação celular. Sabe-se que a exposição pré-natal ao ETOH pode afetar os sistemas músculo-esquelético, cardiovascular e o sistema nervoso central (SNC). O modelo experimental utilizado zebrafish (*D. rerio*), é um peixe da família *Cyprinidae* e ordem *Teleostei*, cujos embriões apresentam transparência, com fácil visualização da organização celular interna, sendo indicado para testes de toxicologia. Objetivou-se acompanhar a morfogênese de embriões de *D. rerio*, expostos a ETOH. Embriões de zebrafish classificados como bons, foram subdivididos em triplicata, com n total de 330, alocados em placas de 96 poços, com concentrações de ETOH variando entre 50% até 0,09%, caindo em diluição de 1:2. As avaliações ocorreram a cada 24h, durante 168 hpf, para observação de sobrevivência, alterações teratogênicas e frequências cardíacas. A concentração de 1,56%, nos tempos de exposição 72, 96 e 120, hp, apresentou frequência cardíaca embrionária de 111 bpm, 110 bpm e 76 bpm respectivamente, enquanto o grupo controle foi de 142 bpm, 146 bpm e 144 bpm respectivamente. Em 168 hpf, houve um aumento da frequência cardíaca nas concentrações de 0,31%, 0,19% e 0,09%. Em relação ao controle esse aumento foi de 8% ( $p < 0,05$ ). Foi contabilizado o número de embriões mortos, para a determinação da concentração responsável pela morte de 50% dos embriões em dois momentos 96 hpf e 168 hpf. Na exposição aguda, obtivemos a fórmula  $y = 0,6122x + 4,9939$  a partir deste momento o y foi substituído pelo log de 0,5 = 1,057729941 e com a resolução da mesma chegamos ao resultado que a CL50 em exposição aguda 96 hpf, que foi de 6,43%. Na exposição crônica, obtivemos a fórmula  $y = 0,6212x + 5,0014$  a partir deste momento o y foi substituído pelo log de 0,5 = 1,057730 e também com a resolução da mesma chegamos ao resultado que a CL50 em exposição crônica 168 hpf, foi de 6,35%. As teratogênias esqueléticas observadas foram lordose, cifose e escoliose. Alterações morfológicas no crânio como diminuição e menor desenvolvimento, e diminuição dos olhos foram percebidas quando comparados ao grupo controle, possivelmente devido a alterações no SNC. As concentrações letais em 24 hpf foram respectivamente de 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%. Concluímos até o presente momento, que quanto maiores as concentrações, maiores são as alterações nas frequências cardíacas, pois concentrações de 1,56 e 0,78% em 24 e 48 hpf, que foram as diluições com maiores concentrações que apresentaram sobrevivência, apresentaram menor frequência cardíaca do que as demais concentrações e o grupo controle, seja por efeito tóxico direto ou mecanismo compensatório. Alterações teratogênicas foram observadas mesmo em concentrações baixas, como 0,36%, mostrando que o ETOH é tóxico em temperatura ambiente, mesmo em baixas concentrações.

**Palavras-chave:** zebrafish, toxicidade, embriogênese, frequência cardíaca.

**Keywords:** zebrafish, toxicity, embryogenesis, heart rate.

## Comparação da eficiência reprodutiva do zebrafish em tanque específico e inespecífico

Comparison of the reproductive efficiency of zebrafish in specific tank and inespecific

**Kamila Oliveira Santana<sup>1</sup>, Ayate Belarmina Machado<sup>2</sup>, Larise Caroline Oliveira Lima<sup>3</sup>,  
Monica Rodrigues Ferreira Machado<sup>4\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil; <sup>2</sup>Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil; <sup>3</sup>Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil; <sup>4</sup>Professora do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil.

\*E-mail: monica\_rodrigues@hotmail.com

O zebrafish (*Danio rerio*) é um peixe de água doce que se destaca por ser animal modelo em experimentos, devido a sua homologia genética similar a de humanos sendo considerado de fácil criação, manejo e capacidade reprodutiva. Assim, pretendeu-se comparar a eficiência reprodutiva de peixes em tanques específicos e tanques inespecíficos. Reprodutores com um ano de idade, mantidos no Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia em Peixes (LABfish), foram separados em dois grupos. O grupo 1 foi colocado em caixas de reprodução de aquários feitas de rede de nylon e o grupo 2 foi colocado em tanque específico. Os dois grupos foram submetidos à fotoperíodo controlado, com 14 horas de luz e 10 horas no escuro. O critério de escolha de machos e fêmeas foi visual, selecionando-se machos com coloração mais vibrante e fêmeas com abaulamento ventral. No grupo 1, machos e fêmeas eram alocados em criadeiras, desenhadas para peixes de diferentes espécies, com disposição cruzada, de forma que ficassem separados, porém com contato visual. No grupo 2, os peixes foram colocados em tanque reprodutivo, 1,7 L, com conformação única que promove comportamento natural de acasalamento (Tecniplast), o qual permite a separação entre machos e fêmeas, porém também com contato visual, que dispõe de uma rampa, cuja a parte superior é parcialmente submersa e a outra extremidade coberta por água. Os peixes de ambos os grupos foram mantidos separados e por 12 horas, sendo reunidos ao final desse período. Ao fim da reprodução os embriões foram retirados e colocados em placas petri preenchidas com E3, água reconstituída, e contados no microscópio de luz. Ao todo foram avaliadas 6 reproduções em cada tipo de tanque. No grupo 1, foram utilizados 3 fêmeas para cada 6 machos, sendo obtidos uma média de 250 embriões por reprodução. Já no grupo 2, foram utilizadas 1 fêmea para 2 machos, sendo obtidos por reprodução uma média de 302 embriões. Logo, a especificidade de ambiência reprodutiva, determinada pelo tanque de reprodução da Tecniplast promoveu um aumento da eficiência na reprodução de 18,1% no total de embriões produzidos. Além disso, permitiu a redução do uso de fêmeas e machos para reprodução, sendo que no grupo 1 ao total foram utilizados 18 fêmeas e 36 machos. Enquanto que no grupo 2 foram utilizados ao total 6 fêmeas e 12 machos. O resultado obtido deve-se as características físicas do tanque que proporcionaram ambiência específica para a reprodução do *Danio rerio*. Sendo que em seu ambiente natural, este peixe se reproduz em ambientes com lâmina de água baixa. Portanto conclui-se que a eficiência reprodutiva do tanque específico excede a do tanque inespecífico, gerando maior quantidade de embriões e promovendo a redução do número de peixes a serem mantidos em biotério. Sendo necessário levar em consideração a característica reprodutiva dos animais e ambiência, para promover aumento da capacidade de produção dos mesmos.

**Palavras-chave:** reprodução, zebrafish, tanque.

**Keywords:** reproduction, zebrafish, tank.

**Descrição morfológica da parede uterina da raia de água doce da bacia Neotropical,  
*Potamotrygon wallacei* (Elasmobranchii: Potamotrygonidae)**

*Morphological description of uterine wall of the Neotropical freshwater stingray, Potamotrygon wallacei  
(Elasmobranchii: Potamotrygonidae)*

**Rebeca Fontenele Moda<sup>1\*</sup>, Maria Glauciney Fernandes Macedo<sup>2</sup>, Wallice Luiz Paxiúba Duncan<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Graduanda em Zootecnia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, Brasil; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, Brasil; <sup>3</sup>Laboratório de Morfologia Funcional, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, Brasil.

\*E-mail: fonteneler7@gmail.com

Estudos sobre a biologia reprodutiva de raias Neotropicais de água doce são escassos. Isto se deve ao fato das raias serem encontradas apenas nos grandes rios da América do Sul. Soma-se a isso, a grande dificuldade na identificação taxonômica das espécies. Algumas espécies são endêmicas de um rio e seus tributários. A raia de água doce *Potamotrygon wallacei* (conhecida como raia cururu) foi recentemente descrita. Apesar disso, é amplamente explorada como peixe ornamental no mundo inteiro. A pesca dirigida sobre esta espécie levou a uma redução significativa nos estoques pesqueiros. Similar aos demais elasmobrânquios, as raias de água doce são *k* estrategistas, apresentam longevidade no seu ciclo de vida e reprodução tardia. Tais características justificam o presente estudo. Neste trabalho foram coletadas vinte exemplares de raias *P. wallacei* na sub-bacia do Rio Negro (bacia Amazônica). As fêmeas consistiam em grupos de: não grávidas, grávidas e pós-parto. Os animais foram coletados sob autorização do SISBIO/ICMBio n° 9324-1. O protocolo de eutanásia foi aprovado pelo comitê de ética no uso de animais CEUA/UFAM n° 031/2015. Os úteros foram imediatamente removidos e fixados em glutaraldeído (2,5%) tamponado salino. Após desidratação, foram emblocados em resina metacrilato e as secções fotografadas. As imagens digitalizadas foram analisadas semiquantitativamente. Os úteros são estruturas pares localizados sobre os rins e precedidos pelas glândulas oviducais. Nas fêmeas grávidas, a parede interna possui uma espessa mucosa com abundantes e trofonemas longos. Microscopicamente, observou-se que o órgão possui três camadas principais: adventícia, muscular e mucosa. A camada Adventícia é constituída de tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado que reveste todo o órgão. Na camada muscular observam-se duas subcamadas, externa e interna constituídas por tecido tipo liso. Na camada mucosa, as estruturas denominadas de trofonemas caracterizam-se por apresentar tecido conjuntivo frouxo revestido por epitélio simples. Nestes, há a presença de células musculares lisas, cilíndricas e também, capilares sanguíneos. Ao quantificar os componentes da mucosa, notou-se que fêmeas grávidas apresentaram maior abundância de vasos superficiais e células epiteliais cilíndricas em arranjo glandular nestas estruturas. Por outro lado, fêmeas não-grávidas apresentaram maior quantidade de células epiteliais cilíndricas sem organização e vasos dilatados. Fêmeas pós-parto apresentaram trofonemas com pouca vascularização e abundância em células cilíndricas aglomeradas. Portanto, são evidências de que o tecido estava a se reconstituir. Em geral, tais descrições para a raia de água doce *P. wallacei* são semelhantes aos já descritos para raias marinhas, o que demonstra o elevado grau de conservação evolutiva destas estruturas.

**Palavras-chave:** Potamotrygonidae, raia cururu, útero, trofonemas.

**Keywords:** *Potamotrygonidae*, *cururu stingray*, *uterus*, *trophonemata*.



## **Criopreservação do sêmen de *Prochilodus lineatus* com melatonina: qualidade espermática pós descongelamento**

*Cryopreservation of Prochilodus lineatus sperm with melatonin: post-thaw sperm quality*

**Renata Catão Egger<sup>1,\*</sup>, Naiara Cristina Motta<sup>2</sup>, Gilmara Junqueira Machado<sup>3</sup>,  
Arthur Silva Castro<sup>1</sup>, Pollyana Haddad Siqueira<sup>2</sup>, Alexmiliano Vogel de Oliveira<sup>4</sup>,  
Luis David Solis Murgas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, Brasil;

<sup>2</sup>Departamento de Zootecnia, UFLA, Lavras, MG, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Biologia, UFLA, Lavras, MG, Brasil;

<sup>4</sup>Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Viçosa, MG, Brasil.

\*E-mail: recataoegger@gmail.com

O processo de criopreservação causa danos ao espermatozoide, diminuindo suas taxas de motilidade, velocidade espermática e integridade da membrana, conseqüentemente afetando a capacidade de fertilização. Dessa forma, a adição de antioxidantes ao meio de congelamento pode auxiliar na redução das crioinjúrias causadas pelo processo de criopreservação. A melatonina tem efeito antioxidante e, portanto, este estudo buscou avaliar os efeitos da melatonina no processo de criopreservação do sêmen de *Prochilodus lineatus*. Após indução hormonal com extrato bruto de hipófise de carpa (4 mg/kg de peso de corporal), o sêmen de *P. lineatus* (n=16 pools; 3 machos por pool) foi coletado e em seguida criopreservado (-196 °C) em solução de glicose e metilglicol a 325 mOsm/kg com as seguintes concentrações de melatonina: 0 mM (controle), 2,00 mM, 2,75 mM, 3,50 mM e 4,25 mM. Após descongelamento em banho-maria (60 °C por 8 s), o sêmen foi avaliado com auxílio do Sistema Computadorizado de Análise de Sêmen e foram determinados os parâmetros de taxa de motilidade (%), velocidade curvilínea (VCL), velocidade média de percurso (VAP) e velocidade linear (VSL). Para a ativação espermática foi utilizada solução de glicose a 100 mOsm/kg. Os dados foram comparados por ANOVA, seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de significância. Uma maior taxa de motilidade (p<0.05) foi observada no sêmen criopreservado com 2,00 mM de melatonina (92,9%) em relação aos demais tratamentos com adição de melatonina (64,1-68,9%). A motilidade do sêmen do controle (78,7%) não diferiu dos tratamentos com melatonina (p>0.05). A VCL e a VAP do sêmen do tratamento com adição de 2,00 mM de melatonina (84,1 µm/s e 53,6 µm/s) foi superior (p<0.05) aos demais tratamentos (48,2-69,2 µm/s e 32,2-43,2 µm/s). Uma maior VSL (p<0.05) foi observada no sêmen criopreservado com 2,00 mM de melatonina (30,8 µm/s) em relação aos demais tratamentos com adição de melatonina (20,6-22,0 µm/s). A VSL do sêmen do controle (25,3 µm/s) não diferiu dos tratamentos com melatonina (p>0.05). Como a adição de 2 mM de melatonina ao meio de criopreservação de sêmen *Prochilodus lineatus* promove melhor velocidade curvilínea após descongelamento, conseqüentemente poderá garantir maior taxa de fertilização.

**Palavras-chave:** congelamento, antioxidante, velocidade curvilínea.

**Keywords:** freezing, antioxidant, curvilinear velocity.



## **Influência da temperatura ambiente na viabilidade de embriões de *Danio rerio***

*Viability of Ambient temperature and its influence over *Danio rerio* embryos*

**Ayate Belarmina Machado<sup>1</sup>, Kamila Oliveira Santana<sup>1</sup>, Larise Caroline Oliveira Lima<sup>1</sup>,  
Mônica Rodrigues Ferreira Machado<sup>2,\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduanda Medicina Veterinária, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil; <sup>2</sup>Professora do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Jataí, Jataí, GO, Brasil.

\*E-mail: monica\_rodrigues@ufg.br

O zebrafish (*Danio rerio*) tem sua capacidade reprodutiva dependente de diversos fatores principalmente aqueles relacionados à qualidade da água. Dentre eles, a temperatura da água influencia diretamente na fisiologia e metabolismo dos peixes. A temperatura ideal promove o amadurecimento sexual dos peixes de maneira precoce e garante reprodução contínua. Porém a temperatura da água não depende somente de controles internos, existindo uma troca de temperatura entre o meio aquático e externo do laboratório. A temperatura de manutenção e reprodução da água do zebrafish varia de 27° a 30°C. Assim pretendeu-se, analisar a viabilidade embrionária e sua relação com a temperatura ambiente. Reprodutores com um ano de idade, mantidos no Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia em peixes (LaBFish), foram submetidos à reprodução. Os peixes eram alocados em um aquário com divisórias separando os machos das fêmeas de forma que compartilhassem a mesma água, porém não se misturassem. A divisória era retirada no início da manhã seguinte, sendo que os reprodutores eram mantidos juntos durante 2 horas. Os embriões foram posteriormente coletados e colocados em placas de petri preenchidas com E3 para avaliação em microscópio de luz quanto à viabilidade. As reproduções foram separadas de acordo com a temperatura da época em que ocorreram: grupo 1- temperatura elevada, agosto a outubro, com temperatura média no estudo ultrapassando 32°C, e grupo 2- temperatura amena, maio a julho, temperatura média abaixo dos 30°C. Durante as avaliações experimentais no grupo 1 foram obtidos 1676 embriões em 6 reproduções, sendo 82,94% viáveis, 5,31% intermediários e 11,75%. Já no grupo 2 foram obtidos 2812 embriões em 6 reproduções sendo 80,83% viáveis, 12,63% intermediários e 6,54% inviáveis. Pela comparação do total de embriões produzidos e da porcentagem dos viáveis observamos que o grupo 2, de temperatura mais amena, excede em quantidade e qualidade o grupo 1. Esses resultados indicam que a temperatura ambiente a qual os adultos foram expostos, pode influenciar na reprodução, independente do controle de temperatura da água. A troca de temperatura entre água e ar promove variação da temperatura da água. Sendo que temperaturas ambientais maiores determinaram o aumento da temperatura da água. Os peixes do grupo 2 que reproduziram durante a temperatura mais elevada do ano (acima dos 32°C) podem ter sofrido estresse térmico o que consequentemente prejudicou o número de embriões viáveis. Pela observação dos aspectos analisados, a reprodução em temperaturas ambientes elevadas deve ser evitada. Para que a temperatura não exceda a temperatura ideal da espécie, deve-se promover a diminuição da temperatura da água do aquário promovendo ambiência. Para tanto pode-se fazer uso de um cooler, trocar a lâmpada comum por uma de LED e deixar a tampa do aquário aberta para que a água evaporada saia de forma rápida.

**Palavras-chave:** zebrafish, reprodução, temperatura, viabilidade.

**Key words:** zebrafish, reproduction, temperature, viability.