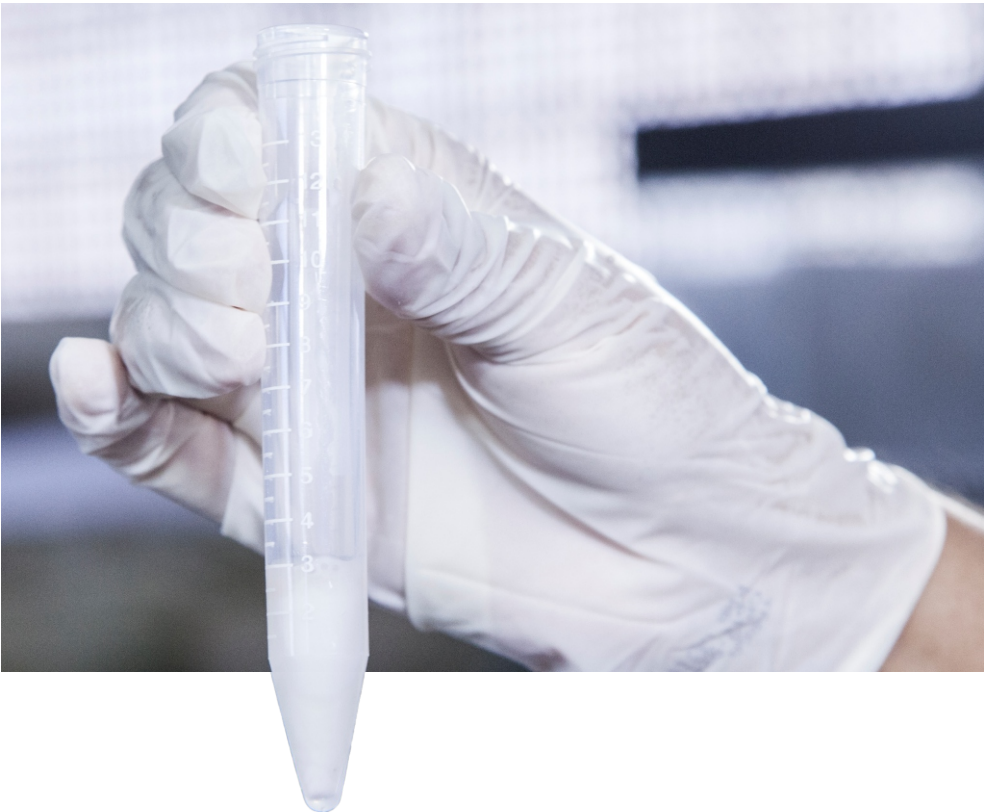


Manejo sanitário para criopreservação de sêmen de reprodutores de peixes nativos



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Pesca e Aquicultura
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 16

**Manejo sanitário para
criopreservação de sêmen
de reprodutores de peixes
nativos.**

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Pesca e Aquicultura

Quadra 104 Sul, Av. LO 1, nº 34, Conjunto 4,
1º e 2º pavimentos, Plano Diretor Sul
CEP 70020-901 Palmas, TO
Fone: (63) 3229.7800 / 3229.7850
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Unidade responsável pelo conteúdo

Embrapa Pesca e Aquicultura

Comitê de Publicações

Presidente: *Eric Arthur Bastos Routledge*

Secretária-Executiva: *Renata Melon Barroso*

Membros: *Alisson Moura Santos, Andrea
Elena Pizarro Munoz, Hellen Christina G. de
Almeida, Jefferson Christofolletti, Marcelo
Könsgen Cunha, Marta Eichemberger
Ummus*

Unidade responsável pela edição

Embrapa Pesca e Aquicultura

Editoração eletrônica e
tratamento das ilustrações

Jefferson Cristiano Christofolletti

Foto da capa

Jefferson Cristiano Christofolletti

1ª edição

Versão eletrônica (2015)

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Pesca e Aquicultura

Manejo sanitário para criopreservação de sêmen de reprodutores de peixes

nativos / autores, Marina Keiko Pieroni Iwashita... [et al.]. Palmas, TO :
Embrapa Pesca e Aquicultura, 2015.

27 p. (Documentos / Embrapa Pesca e Aquicultura, ISSN 2318-1400 ; 16).

1. Reprodução. 2. Peixe. 3. Produção. I. Iwashita, Marina Keiko Pieroni.
II. Alves, Anderson Luís . III. Mataveli, Marcela. IV. Varela, Eduardo Sousa.
V. Kirschnik, Luciana Nakaghi Ganeco. VI. Embrapa Pesca e Aquicultura. VIII.
Série.

CDD 664.942

© Embrapa 2015

Autores

Marina Keiko Pieroni Iwashita

Médica-veterinária, doutora em Aquicultura,
pesquisadora da Embrapa Pesca e Aquicultura,
Palmas, TO

Anderson Luís Alves

Biólogo, doutor em Genética,
pesquisador da Embrapa Pesca e Aquicultura,
Palmas, TO

Marcela Mataveli

Zootecnista, doutora em Zootecnia,
analista da Embrapa Pesca e Aquicultura,
Palmas, TO

Eduardo Sousa Varela

Biólogo, doutor em Genética e Biologia Molecular,
pesquisador da Embrapa Pesca e Aquicultura,
Palmas, TO

Luciana Nakaghi Ganeco Kirschnik

Zootecnista, doutora em Aquicultura / Reprodução,
pesquisadora da Embrapa Pesca e Aquicultura,
Palmas, TO

Apresentação

A ocorrência de problemas sanitários em peixes reflete diretamente na produção causando prejuízos econômicos e até a completa falência do empreendimento. Com o aumento da produtividade aquícola resultante do confinamento e da intensificação nos sistemas de produção, os riscos de infecções e a propagação de doenças tem se expandido em algumas culturas aquícolas. A situação é bem mais alarmante no setor de produção de formas jovens – pós-larvas e alevinos – considerados potentes vetores de transmissão de doenças. Geralmente esses problemas são causados por falhas de manejo associadas a fatores ambientais e pela baixa qualidade genética dos plantéis de reprodutores. Nesse contexto, algumas práticas de manejo sanitário são fundamentais para manutenção de plantéis saudáveis e produção de lotes de alevinos de qualidade.

Eric Arthur Bastos Routledge

Chefe de Pesquisa e Desenvolvimento

Sumário

Introdução.....	09
Seleção de reprodutores	10
Manejo sanitário de peixes	13
Guia passo a passo dos procedimentos.....	16
Considerações finais	25
Referências	25

Manejo sanitário para criopreservação de sêmen de reprodutores de peixes nativos

Marina Keiko Pieroni Iwashita

Anderson Luís Alves

Marcela Mataveli

Eduardo Sousa Varela

Luciana Nakaghi Ganeco Kirschnik

Introdução

O manejo e a seleção inadequados de matrizes para a reprodução e a própria ação de extrusão de machos e fêmeas são umas das mais importantes formas de contaminação dos animais por fungos e bactérias. O incorreto manejo de peixes destinados à reprodução leva ao insucesso do processo reprodutivo além da exaustão e morte dos peixes. Além disso, o manejo destes peixes quando realizado de maneira errônea, abre portas para o aparecimento de doenças infecciosas e parasitárias, além de comprometer a qualidade dos gametas gerados. Uma estratégia para reduzir o manejo de machos é a utilização de sêmen congelado na reprodução, usando técnicas de criopreservação de gametas é possível reduzir a chances de contaminação dos machos e aumentar o número de cruzamentos com segurança para o plantel.

Um dos principais objetivos da criopreservação de sêmen é a conservação dos recursos genéticos, visto que com poucas gerações, determinadas características genéticas podem ser perdidas em estoques naturais e cultivados (Carneiro et al., 2012). Este processo pode ser evitado por ações prévias de colheita e preservação do sêmen

(Moreira *et al.*, 2001) e com a formação de bancos de germoplasma. Dentre as aplicações de banco de sêmen de peixes, destacam-se (Godinho, 2007):

- Redução do número de reprodutores (machos) mantidos na piscicultura;
- Redução de custos;
- Sincronização do ciclo reprodutivo;
- Desenvolvimento de programas de melhoramento genético com a seleção de animais de alto desempenho.

Por outro lado, o uso comercial de sêmen de peixes nativos não é uma prática rotineira nos sistemas de produção, embora seja realidade em outras espécies como salmão, catfish, linguado, e outros. No entanto, essa prática tende a se tornar rotineira na aquicultura brasileira assim que alguns gargalos metodológicos sejam superados, e o controle sanitário dos planteis de matrizes é um deles.

Seleção de reprodutores

A seleção de reprodutores de espécies comerciais é um procedimento fundamental na produção de formas jovens de peixes. Em geral, os reprodutores têm expressiva fecundidade, pela qual um único casal é capaz de gerar dezenas de milhares de alevinos potenciais reprodutores. Esse processo necessita de manejo adequado e alguns fatores são fundamentais para uma seleção de maior eficiência:

- a) **Controle de acasalamentos endogâmicos:** nas pisciculturas produtores de alevinos é frequente a composição de plantéis de matrizes a partir de reprodutores consanguíneos ou aparentados (irmãos, meio irmãos, pais e filhos). Em plantéis de animais consanguíneos, é maior a possibilidade de doenças se manifestarem e apenas uma pequena infecção ou contaminação

por fungos, vírus ou bactérias é capaz de dizimar todo o plantel, devido à baixa variabilidade genética entre animais susceptíveis e resistentes às enfermidades (Hashimoto *et al.*, 2012; Alves *et al.*, 2013). Em geral, quando esses animais são mantidos na propriedade, os gametas exibem anormalidades e há grandes chances das doenças serem transmitidas dos pais às progênie. Desse modo é importante que os plantéis sejam mantidos com o menor grau de parentesco médio possível para que se diminuam as chances de acasalamentos consanguíneos e que seja evitado o aumento de animais susceptíveis às infecções (Varela *et al.*, 2015).

- b) **Idade:** a idade dos animais é também considerada um parâmetro relevante na seleção de reprodutores, tendo em vista que animais muito jovens ou de idade avançada apresentam maior susceptibilidade às doenças, comprometendo a manutenção do plantel. A idade da maturação varia com a espécie e sexo, e dentro de uma mesma espécie, com o tamanho. Além disso, fatores externos podem influenciar o tempo de maturação destes peixes. Alguns peixes como as tilápias (*Oreochromis* spp.) atingem a maturação sexual em poucos meses, entretanto, peixes migradores como os pacus (*Piaractus mesopotamicus*), os tambaquis (*Colossoma macropomum*) e os *Brycon* spp., como a Piracanjuba e o Matrinxã, podem levar anos de maturação de gônadas.
- c) **Estado nutricional:** Em geral, os peixes que apresentam bom estado nutricional terão o sistema imune mais fortalecido (Iwashita *et al.*, 2015) e conseqüentemente melhor desempenho na reprodução. Verificou-se que dietas ricas em vitamina E e ácidos graxos insaturados de cadeia longa para reprodutores estimulam a maturação sexual e melhoram a fecundidade, fertilidade e qualidade dos ovócitos. É importante considerar que muitas deficiências e problemas encontrados no início do cultivo de larvas de peixes estão diretamente relacionados ao regime alimentar dos reprodutores (Izquierdo *et al.*, 2001).

- d) **Desempenho na engorda:** A escolha de peixes reprodutores tem início por volta do primeiro ano de vida, onde se recomenda que sejam selecionados animais que se destaquem na produção. Em geral, o ganho de peso é o principal indicativo para a seleção dos peixes neste estágio inicial do ciclo de vida. Apesar de ainda jovens para serem considerados reprodutores, a seleção precoce favorece o manejo específico destes animais e descarta os inaptos. Animais fracos, com baixo desenvolvimento e com deformidades ou mais susceptíveis a doenças devem ser descartados como reprodutores.
- e) **Maturação sexual:** A avaliação de algumas características dos reprodutores antes da indução hormonal é importante, pois indicam o estágio de maturação gonadal. Algumas características observadas nas fêmeas são o abdômen aumentado, papila urogenital proeminente e rosada ou avermelhada. Nos machos, o que se observa é a liberação de gotas de sêmen mediante a massagem abdominal. No entanto, essas características não podem ser aplicadas a todas as espécies de peixes, pois algumas não apresentam dimorfismo sexual dificultando a diferenciação de machos e fêmeas (Solis-Murgaset al., 2011).
- f) **Qualidade espermática:** Antes da reprodução efetiva, ou mistura de gametas, deve ser realizada uma avaliação da qualidade do sêmen quanto aovolume, motilidade e morfologia. Além destes parâmetros pré-reprodução outro parâmetro importante é a avaliação pós-reprodução, e os principais critérios são as taxas de fertilização, eclosão e sobrevivência. Estas taxas são importantes para decisão sobre a manutenção do sêmen do reprodutor, uma vez que se a qualidade espermática e reprodutiva do macho não for adequada este material genético só deverá ser mantido se o reprodutor tiver outra característica de interesse, como exemplo ausência de espinho em Y em peixes redondos, ou alguma característica genética rara, do contrário esse sêmen deve ser descartado.

Com base nos parâmetros discutidos o produtor será capaz de realizar a seleção de matrizes de modo eficiente e que lhe proporcione maior qualidade ao alevino produzido. No entanto, para garantir segurança a matriz, em especial aos machos é fundamental que a avaliação sanitária e o manejo sanitário sejam realizados de forma adequada.

Manejo sanitário de peixes

Para que o manejo sanitário seja efetivo é necessário seguir determinados cuidados durante o processo pré e pós reprodução ou coleta de sêmen que garantam a saúde e segurança da matriz. O fluxograma apresentada na figura 1 traz um resumo destes cuidados que serão discutidos em seguida.

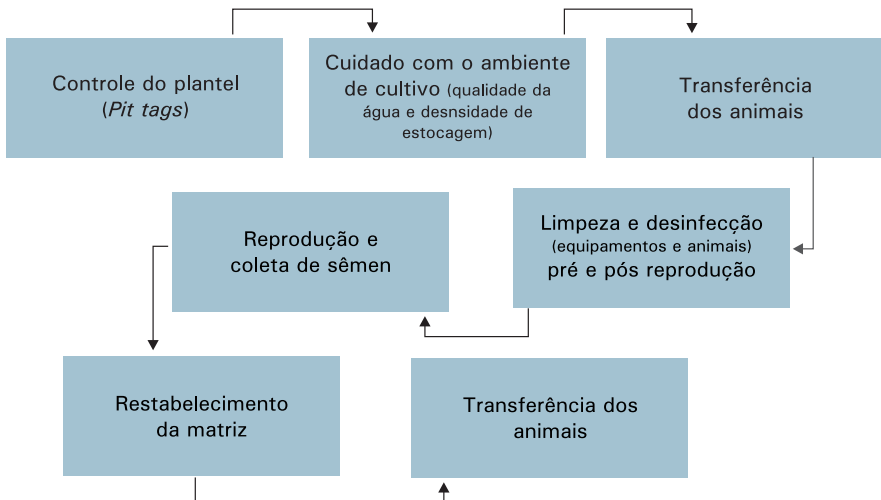


Figura 1. Fluxograma de manejo sanitário de reprodutores com os cuidados a serem seguidos durante o processo pré e pós reprodução ou coleta de sêmen.

Uma vez que os animais foram selecionados o manejo dos reprodutores deve começar com a sua identificação individual por meio de *PIT tags* (Hashimoto *et al.*, 2012; Alves *et al.*, 2013). Esse procedimento é fundamental para a identificação sexual, registro zootécnico e acompanhamento sanitário dos animais. Esse controle individual é

fundamental para o manejo adequado do plantel e possibilita seguir os parâmetros listados para seleção de reprodutores de forma eficiente. No entanto, outros cuidados são necessários para evitar problemas sanitários com os reprodutores que inviabilizem a seleção e uso da matriz.

O ambiente de cultivo inapropriado afeta diretamente o desempenho reprodutivo. Por exemplo, água de má qualidade e altas densidades de estocagem geram estresse e alterações fisiológicas no organismo do peixe e conseqüentemente prejudicam a produção de gametas. A água de cultivo quando não adequada à espécie, pode levar ao desenvolvimento de doenças e graves alterações morfológicas em diversos órgãos dos animais, como em brânquias e fígado (Iwashita e Maciel, 2013). Além disso, o estresse eleva quantidade de radicais livres no organismo em relação à quantidade de antioxidantes. Desta forma, os radicais livres se ligam à membrana plasmática do espermatozóide, que possui altas quantidades de ácidos graxos polinsaturados e sofrem peroxidação lipídica. Este processo na membrana plasmática do espermatozoide está associado à queda da motilidade e conseqüentemente leva à dificuldade de fusão do espermatozoide e ovócito (Mataveli et al., 2010), reduzindo assim a taxa de fertilização.

Na transferência dos animais do ambiente de cultivo para o laboratório de reprodução (Quadro 1), deve-se atentar para diminuir ao mínimo a exposição dos animais ao estresse, que pode comprometer a extrusão do sêmen. Geralmente o laboratório deve ser localizado nas proximidades do tanque dos reprodutores. Quando isto não é possível, o uso de equipamentos adequados para o número e tamanho dos peixes, deve ser levado em consideração, principalmente a fim de se evitar quedas e traumatismos nos animais.

Quadro 1. Recomendações técnicas para o transporte de reprodutores.

- Evite o estresse desnecessário aos animais;
- Garanta que os animais sejam transportados seguramente ao laboratório, dentro de baldes e caixas de transporte;
- Use puçás e redes adequados ao tamanho dos peixes;
- Anestésie ou sede os peixes quando necessário para diminuir os efeitos do estresse;

A limpeza e desinfecção dos equipamentos, ambiente de manejo dos animais e laboratórios é essencial na busca pelo sucesso reprodutivo, e deve ser realizada antes e após seu uso. O acúmulo de material biológico, como sêmen e muco, promove a proliferação de patógenos que compromete a qualidade do produto além de ser fonte de infecção para os peixes e o manipulador. A limpeza deve ser efetuada preferencialmente com água corrente ou sob pressão, para retirar resíduos mais grossos e restos de material biológico, e em seguida, utilizando um agente sanitizante que não deixe resíduos no ambiente (Iwashita e Maciel, 2013).

Durante os procedimentos de reprodução (extrusão) ou na coleta de sêmen, os cuidados sanitários a serem seguidos estão relacionados à manipulação do animal onde ocorre a maior chance de contaminação por agentes sanitários (bactérias, fungos, vírus). Esses procedimentos visando o manejo sanitário adequado do reprodutor são fundamentais em três etapas: a) transporte do animal após seleção que deve ser feita em caixa de transporte para evitar o stress ou queda do animal; b) na indução hormonal onde deve ser realizada assepsia do local com álcool 70% antes e após a injeção de hormônio; c) durante a coleta do sêmen onde o animal está sendo manipulado e massageado para liberação do material genético e a força exagerada e quedas devem ser evitadas nesse procedimento como veremos a seguir.

Após a colheita de sêmen o animal não deve voltar diretamente ao viveiro. Ele deve permanecer em caixas d'água ou tanques do laboratório até seu restabelecimento, que tem variação de tempo de

acordo com a espécie e com o tamanho do reprodutor, e deve ser controlado visualmente. Em seguida, o transporte de retorno ao viveiro deve ser realizado seguindo as recomendações citadas anteriormente.

Guia passo a passo dos procedimentos

Preparação de material

Nesta etapa deve ser realizado o cálculo da dose de hormônio a ser utilizado baseando-se no peso de cada indivíduo para a indução reprodutiva. Todo material utilizado (Quadro 2) deve ser limpo com água e sabão, proceder com a antissepsia, borrifado com álcool 70% e cuidadosamente seco com um papel absorvente ou deixa-lo ao ar. Cuidado extra deve ser tomado com os equipamentos que entrarão em contato direto com o material colhido, como bacias, penas, tubos, entre outros.

A limpeza e desinfecção dos equipamentos garante inocuidade das amostras colhidas além de diminuir o risco de infecções e contaminação por fungos, bactérias e vírus.

Quadro 2. Material utilizado para a indução hormonal e colheita de sêmen.

Indução

- Bacias
- Espátulas ou penas
- Cadinho de porcelana e pistilo
- Seringa estéril descartável agulhada
- Hormônio
- Soro fisiológico estéril

Colheita do sêmen

- Tubos coletores de boca larga
- Seringa estéril
- Soro fisiológico

Avaliação sanitária de reprodutores

A avaliação sanitária dos peixes destinados à reprodução deve conter informações como:

- Na escolha do peixe para a colheita e criopreservação do sêmen, a documentação deste animal será verificada;
- Os animais devem ser localizados utilizando os dados de registro;
- Para a captura do peixe devem ser utilizados equipamentos próprios para seu tamanho e espécie;
- Quarentena dos animais selecionados – devem ser mantidos isolados do contato com os demais peixes da piscicultura nos dias que se precede da indução hormonal e coleta de sêmen, manejados o mínimo possível, além de garantir que outras colheitas não serão realizadas;
- Exame físico (Quadro 3)
 - Peso – para cálculo da dosagem de hormônio em caso de indução;
 - Estado sanitário: presença de lesões, de parasitos, descamação, abaulamento abdominal, letargia, opacidade de olhos, hemorragias;
 - Maturidade sexual
- Averiguação da qualidade dos gametas – colheita de amostras de sêmen para avaliação da motilidade e qualidade espermática;

Quadro 3. Avaliação físico sanitária dos reprodutores.

- Evite o estresse desnecessário aos animais;
- Sempre checar os dados dos reprodutores, microchip e dados de ciclos anteriores;
- Evite deixar os animais caírem no chão ou se debaterem;
- Sempre manipule os animais com equipamento específico;
- Evite massagear fortemente o animal na coleta de amostras de sêmen para não machucá-lo;

Preparação dos reprodutores

Os reprodutores escolhidos para a colheita de material devem ser preparados previamente a fim de garantir o sucesso da colheita e minimizar os efeitos deletérios do estresse. Ressalta-se que a qualidade do sêmen pode ser afetada por fatores bióticos e abióticos durante a indução hormonal e colheita (Rurangwa et al., 2004).

- Acondicionamento do animal em local adequado – o animal transportado para o laboratório de reprodução deve ser mantido em condições adequadas de renovação e água, manutenção da temperatura ideal para a espécie e aeração. Para espécies saltadoras, é recomendável a cobertura dos tanques;
- Aclimação - por 24 horas, ou mais, para a redução nos níveis de hormônios relacionados ao estresse além de assegurar higiene ao animal no momento da colheita ou indução;
- Indução hormonal – deve-se proceder com a antisepsia do local da aplicação antes e após o procedimento, utilizando-se álcool 70% ou álcool iodado. Recomenda-se que todo o material seja estéril descartável ou esterilizado. O uso de luvas de procedimento durante todo o processo é fortemente encorajado, a fim de se evitar a contaminação cruzada e transmissão de patógenos entre o peixe, o manipulador e as amostras;

- Anestesia – realizada anteriormente à extrusão, deve ser feita de maneira adequada à espécie, observando o estágio anestesia, a fim de garantir que o animal não ficará nem em um plano anestésico muito profundo do qual não retornará e que não seja superficialmente anestesiado, onde pode se debater causando traumas. O plano recomendado é o que ocorre a perda do equilíbrio do animal, no qual ele “vira” e fica com o abdômen para cima.
- Após a colheita de sêmen, o animal não deve voltar imediatamente ao viveiro. Ele deve permanecer em caixas d’água ou tanques no laboratório até seu restabelecimento.

Procedimentos para a colheita de sêmen

Com o animal pronto para a colheita de sêmen, alguns cuidados devem ser tomados:

- Com o peixe anestesiado/sedado, retire-o da água e o imobilize;
- Cubra sua cabeça com uma toalha úmida, para ajudar na contenção;
- Seque com papel toalha o orifício urogenital para evitar a contaminação e ativação espermática;
- A massagem nos machos deve ser realizada no sentido da cabeça para a cauda, gradualmente, como se “empurrasse” o conteúdo do saco espermático no sentido da cauda;
- A quantidade de sêmen (volume e número de espermatozoides/mL) produzido varia de acordo com a espécie, desempenho individual, tamanho do peixe e método de coleta;
- Colete o sêmen em um recipiente de boca larga para evitar a perda de material;

- Acondicione o recipiente com o material colhido em caixa térmica resfriada, evitando o contato direto do sêmen com gelo;
- Devolva gentilmente o peixe à caixa de aclimação, observando-o durante o seu retorno anestésico;

Recomenda-se realizar banhos de sal (NaCl) para diminuição do estresse osmorregulatório, produção de muco e prevenção de infecções secundárias e infestação por parasitos (Carneiro e Urbinati, 2001; Gomes et al., 2003).

Quadro 4. Recomendações de procedimentos para a colheita de sêmen.

- Evite o estresse desnecessário aos animais;
- Use equipamentos específicos para a contenção do animal, tomando o cuidado para não machuca-lo;
- Use luvas durante a colheita do sêmen;
- A pressão utilizada na massagem deve ser ideal para a colheita do sêmen sem que ocorram traumas físicos no animal;
- Garanta que todo o material em contato com a amostra colhida esteja seca;
- Todo o procedimento deve ser realizado rapidamente para evitar que o animal sofra o estresse de exposição aérea;
- A utilização de uma capa protetora (Figura 2) pode minimizar a ocorrência de lesões provenientes da massagem durante colheita de sêmen. Recomenda-se, neste caso, a assepsia da capa a cada uso, antes de utilizá-la em outro animal, para prevenir o risco de infecções;
- O uso do acolchoado (Figura 2) durante a colheita fornece maior conforto e estabilidade para o peixe, e deve também ser limpo antes de receber o próximo peixe.



Foto: Anderson Luis Alves

Figura 2. Capa protetora e acolchoado utilizado minimizar a ocorrência de lesões abdominais durante a colheita de gametas.

A maneira rotineira de coleta de sêmen observada em centrais de alevinagem é a realização da pressão no ventre do animal ao invés de massagem para colheita de sêmen. Isso pode causar o esgotamento do animal, resultando em lesões no tegumento (Figura 3) e até a morte do reprodutor. Apresentamos na figura 4 um esquema demonstrando a maneira usual, o esfregaço (Figura 4 A) e a massagem pontual (Figura 4 B), indicando que o esquema B é o adequado para o bem estar do animal evitando a forte pressão na metade da barriga do reprodutor que pode levar a drásticas lesões que podem ser uma porta para a entrada de bactérias e fungos. Esse procedimento errado pode causar a tardia recuperação do animal ou até a morte do reprodutor como mencionado anteriormente.



Foto: Anderson Luis Alves

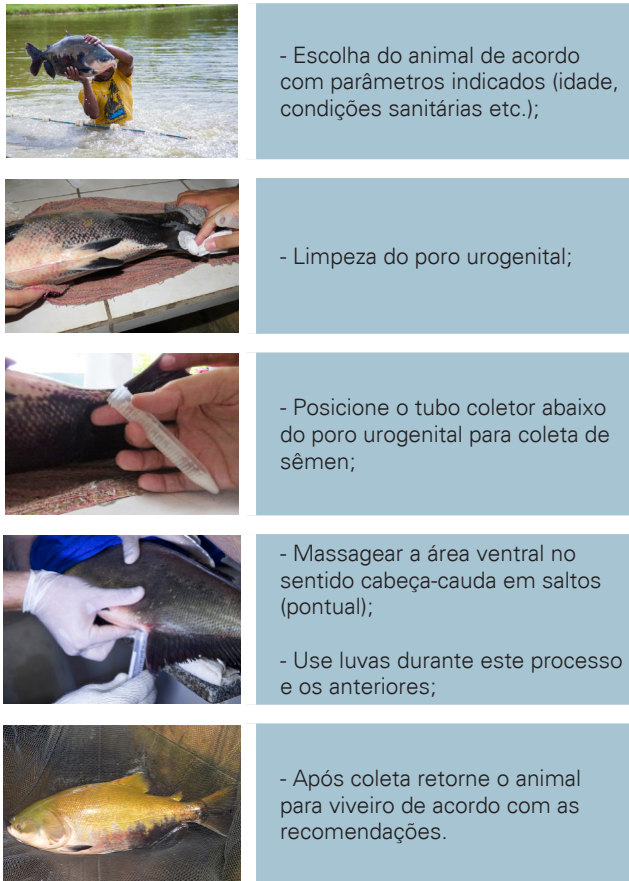
Figura 3. Lesões no tegumento ocasionadas pela massagem abdominal para colheita do sêmen.



Foto: Jefferson Cristiano Christofolerti

Figura 4. Esquema de coleta de sêmen em peixes mostrando duas situações: esfregaço (A) e massagem abdominal pontual (B).

Nesse sentido, indicamos um passo a passo para colheita de sêmen (Figura 5), buscando evitar injurias físicas ao reprodutor durante o processo de seleção, colheita e retorno ao tanque, reduzindo também a chance de infecções e contaminações por agentes sanitários (bactérias, fungos e vírus). Esses procedimentos visam garantir a qualidade do processo de criopreservação levando em consideração aspectos sanitários de boas práticas no manejo dos reprodutores.



Fotos: - Jefferson Cristiano Christofolletti/Anderson Luis Alves

Figura 5. Guia de recomendações para coleta de sêmen de peixes com boas práticas sanitárias.

Armazenamento do sêmen

O sêmen de peixes pode ser mantido viável por algumas horas quando armazenado resfriado em caixa com gelo entre 2 e 8°C para uso no mesmo dia (Marques e Godinho, 2004). No entanto, o que ocorre de rotina é a preservação em longo prazo pelo processo de criopreservação, nesse caso o sêmen deve ser congelado em nitrogênio líquido a -196°C (Figura 6) e pode ser mantido em bancos de sêmen por prazo indeterminado (Carolsfield et al., 2003; Melo e Godinho, 2006).

Para a criopreservação de sêmen é fundamental a identificação das amostras nos tubos definitivos (paletes), relacionando o número da amostra e sua procedência, a fim de podermos rastrear o animal doador, e estes dados devem ser mantidos em planilhas de controle do plantel de reprodutores (Carneiro et al., 2012). As informações de origem em especial são importantes para evitar a utilização do sêmen do macho criopreservado em inseminações com fêmeas do mesmo grupo genético ou aparentadas, resultando em cruzamento endogâmico.



Fotos: Lídia Fernandes

Figura 6. Manutenção de sêmen em botijões de nitrogênio líquido.

Outro ponto de extrema importância para a criopreservação é a avaliação da qualidade do sêmen, que é determinada pela: motilidade progressiva, vigor espermático, morfologia dos gametas e concentração espermática (Streit-Jr et al., 2008). Por isso, é importante que todo o processo de sua colheita e armazenamento seja realizado de maneira controlada pra garantir o sucesso reprodutivo.

Quadro 5. Recomendações para avaliação espermática.

- Não armazenar sêmen de animais sem avaliação da qualidade espermática. Essa avaliação reduz custos de manutenção e aumenta a eficiência do uso do sêmen criopreservado em futuras inseminações;

Considerações finais

O uso de criopreservação de sêmen de peixes tem crescido muito nos últimos anos, principalmente no que tange a conservação de recursos genéticos e utilização na produção de alevinos, embora ainda não seja uma técnica de rotina na piscicultura, seu potencial pode elevar de modo significativo o uso de reprodutores ao longo do ano reduzindo o período entressafra para produção de alevinos. Mas, para que o processo seja conduzido de modo seguro para o animal é importante que as considerações de boas práticas de manejo sanitário de matrizes sejam seguidas.

Referências

ALVES, A.L.; VARELA, E.S.; HASHIMOTO, D.T. Genética aplicada à piscicultura. In: RODRIGUES, A.P.O. et al (Orgs.). **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimento**. 1ª Ed. EMBRAPA, Cap. 8, p. 273- 300, 2013

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. **Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Bryconcephalus* (Gunther) during transport**. *Aquaculture Research*, Oxford, v.32, n. 4, p. 298-307, 2001.

CARNEIRO, P.C.F.; AZEVEDO, H.C; SANCHES, E.G., MARIA, A.N. **Manual de curadores de germoplasma – animal: Conservação ex situ/in vitro de sêmen de peixes**. Serie Documentos. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2012.

CAROLSFIELD, J.; GODINHO, H.P.; ZANIBONI FILHO, E.; HARVEY, B.J. **Cryopreservation of sperm in Brazilian migratory fish conservation**. Journal of Fish Biology, v. 63, p. 472-489, 2003

HASHIMOTO, D.T.; ALVES, A.L.; VARELA, E.S.; MORO, G.V.; IWASHITA, M.K.; **Cartilha de Genética na Piscicultura : Importância da variabilidade genética, marcação e coleta para análise de DNA**. Brasília, DF: Embrapa, 2012

IWASHITA, M.K. e MACIEL, P.O. Princípios básicos da sanidade de peixes. In: RODRIGUES, A.P.O. et al (Orgs.). **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimento**. 1ª Ed. EMBRAPA, Cap. 7, p. 215- 269, 2013

IWASHITA, M.K.P.; NAKANDAKARE, I.B.; TERHUNE, J.S.; WOOD, T.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. **Dietary supplementation with Bacillus subtilis, Saccharomyces cerevisiae and Aspergillus oryzae enhance immunity and disease resistance against Aeromonas hydrophila and Streptococcus iniae infection in juvenile tilapia Oreochromis niloticus**. Fish and Shellfish Immunology, v. 43, p.60-66, 2015.

IZQUIERDO, M.S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A.G.J. **Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish**. Aquaculture, v. 197, p. 25–42, 2001

GODINHO, H.P. **Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.31, n.3, p.351-360, 2007.

GOMES, L.C.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M., ROUBACH, R.; URBINATI, E.C. **Avaliação dos efeitos da adição do sal e da densidade de transporte de tambaqui**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, V. 38, n. 2, p. 283-290, 2003.

MATAVELI, M.; MORAES, G.V.; STREIT JR, D.P.; RIBEIRO, R.P.; GASPARINO, E. **Qualidade de sêmen em tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de vitamina C**. Acta Scientiarum. Animal Sciences, v.32, n.3, p.345-349, 2010.

MELO, F.C.S.A.; GODINHO, H.L. **A protocol for cryopreservation of spermatozoa of the fish Bryconortho taenia**. Animal Reproduction, v.3, n.3, p.380-385, 2006. Melo e Godinho, 2006

MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; ZIMMERMANN, S. (ED.) **Fundamentos da Moderna Aquicultura**. Ed. da ULBRA, 2001.

RURANGWA, E.; KIME, D.E.; OLLEVIER, F.; NASH, J.P. **The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish**. Aquaculture, Amsterdam, v. 234, p.1 –28, 2004.

SOLIS-MURGAS, L.D.; FELIZARDO, V.E.; FERREIRA, M.R.; ANDRADE, E.S.; VERAS, G.C. **Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.35, n.2, p.186-191, 2011

STREIT-JR, D.P.; SIROL, R.N.; RIBEIRO, R.P.; MORAES, G.V.; VARGAS, L.D.M.; WATANABE, A.L. **Qualitative parameters of the piapara semen (Leporinus alengatus Valenciennes, 1850)**. Brazilian Journal of Biology, v. 68, n. 2, 373-377, 2008.

VARELA, E.S.; ALVES, A.L.; BARROSO, A. S.; TARDIVO, T.F. **Parentesco genético em reprodutores de tambaqui (*Colossoma macropomum*) baseado em marcadores de DNA: perspectivas de manejo genético na ausência de pedigree.** Serie Documentos, p. 32, 2015.

Embrapa

Pesca e Aquicultura

Apoio:



FINANCIADORA DE ESTUDOS E PROJETOS
MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA

CGPE 12378