

## UTILIZAÇÃO DE SOLUÇÕES DE NATUREZA ORGÂNICAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES, NA ATIVAÇÃO DO SÊMEN DE CURIMATÃ COMUM

*(Use of organic natural solutions at different concentrations, on activation of the common curimatem semen)*

Jéssica Uchôa PINHEIRO<sup>1\*</sup>; Jessica de Sousa Castelo BRANCO<sup>1</sup>; Júlia Trugilio LOPES<sup>1</sup>; Renata Vieira do NASCIMENTO<sup>1</sup>; Sayansk Queiroz da SILVA<sup>1</sup>; Carminda Sandra Brito Salmito VANDERLEY<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária (UECE) Av. Dr. Silas Munguba, 1700. Campus Itaperi, Fortaleza, Ce. CEP:60.740-000; <sup>2</sup>Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes (UECE). \*E-mail: [jessica.upinheiro@outlook.com](mailto:jessica.upinheiro@outlook.com)

### RESUMO

A determinação da solução adequada à ativação da motilidade espermática torna-se uma questão importante em trabalhos envolvendo o sêmen de peixes. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a atuação de soluções ativadoras, de composição orgânica, em diferentes concentrações sobre a cinética do sêmen *in natura* de *Prochilodus brevis*. O sêmen foi coletado e foram feitas análises de motilidade espermática, velocidade curvilínea (VCL), velocidade em linha reta (VSL) e velocidade média do percurso (VAP) e duração da motilidade espermática. A glicose 200 mM tendeu a apresentar maiores valores que os demais ( $p < 0,05$ ), apresentando diferença em relação à mesma concentração com frutose na VSL. Concluiu-se que a glicose 200 mM é o mais recomendado para a ativação espermática de *P. brevis*.

**Palavras-chave:** Soluções ativadoras, glicose, espermatozoide.

### SUMMARY

Determination of the appropriate solution to the activation of sperm motility becomes an important issue in studies involving fish semen. Thus, the objective of this work was to evaluate the performance of activating solutions, of organic composition, in different concentrations on the kinetics of the semen *in natura* of *Prochilodus brevis*. Semen was collected and analyzes of sperm motility, curvilinear velocity (VCL), velocity in the straight line (VSL) and mean velocity of the trajectory (VAP) and duration of sperm motility were made. The 200 mM glucose tended to present higher values than the others ( $p < 0.05$ ), presenting difference in relation to the same concentration with fructose in VSL. It is concluded that 200 mM glucose is the most recommended for the sperm activation of *P. brevis*.

**Key words:** Activating solutions, glucose, spermatozoa.

\*Endereço para correspondência:  
[jessica.upinheiro@outlook.com](mailto:jessica.upinheiro@outlook.com)

## INTRODUÇÃO

O *Prochilodus brevis* é um peixe migratório, conhecido regionalmente como curimatã comum. Os espermatozoides de peixes de água doce, como a espécie em questão, são ativados em meio hiposmótico em relação ao plasma seminal (ADAMES *et al.*, 2015). A composição do plasma seminal tem uma influência na qualidade biológica do sêmen, sendo um importante constituinte, tendo uma função vital no metabolismo, na sobrevivência e na motilidade dos espermatozoides (BOZKURT *et al.*, 2011).

A determinação da solução adequada à ativação da motilidade espermática, sem comprometer a qualidade seminal, torna-se uma questão importante em trabalhos envolvendo o sêmen de peixes. Estudos mostram que a ativação seminal em meios contendo açúcares é algo promissor, uma vez que essas substâncias já demonstraram que podem promover maiores taxas de motilidade e velocidades espermáticas (NEUMANN, 2012). Entre as soluções ativadoras que contêm açúcares, pode-se citar a frutose, que tem se mostrado promissora, com comprovada ação na potencialização do movimento espermático (ADAMES *et al.*, 2015).

Atualmente, já existem estudos que esclarecem aspectos sobre a reprodução de *P. brevis* (LOPES *et al.*, 2014). Porém, na literatura, ainda não existem relatos sobre qual a melhor solução ativadora ou qual a sua concentração ideal para ativar o sêmen *in natura*. E assim, o trabalho teve como objetivo avaliar a atuação de soluções ativadoras, de composição orgânica, em diferentes concentrações sobre a cinética do sêmen *in natura* de *P. brevis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi aprovado para o comitê de ética para uso de animais da Universidade Estadual do Ceará: 23977042016. O sêmen de seis machos (n=6) de *P. brevis* foi coletado, armazenado em caixa térmica com gelo, até que as amostras fossem analisadas e processadas. Inicialmente, as amostras foram analisadas, sem a adição de ativador, para verificar a ausência de ativação espontânea. As amostras sem ativação espontânea, foram selecionadas.

Foram testadas nesse subprojeto como soluções ativadoras duas soluções orgânicas, glicose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) e frutose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>), em três concentrações diferentes (50, 125 e 200 mM); totalizando seis ativadores testados. Essas soluções foram utilizadas em temperatura ambiente e as concentrações (50, 125 e 200 mM) correspondendo respectivamente a 50, 125 e 200 mOsm. O sistema de análise seminal auxiliada por computador (CASA) foi utilizado para as análises, estas se deram cerca de 15 s após a ativação seminal e os parâmetros avaliados foram: motilidade espermática (% de espermatozoides móveis), velocidade curvilínea (VCL - µm/s), velocidade em linha reta (VSL - µm/s) e velocidade média do percurso (VAP - µm/s). As análises foram realizadas de acordo com as configurações padrões do programa para peixes. Adicionalmente, foi avaliada a duração da motilidade espermática (em segundos).

\*Endereço para correspondência:

[jessica.upinheiro@outlook.com](mailto:jessica.upinheiro@outlook.com)

As análises estatísticas foram feitas utilizando ANOVA - duas vias e teste de Tukey ou teste de Sidak para comparação entre as médias. O nível de significância utilizado foi de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados obtidos após análise estatística, não houve interação entre os fatores e nenhum dos fatores foi fonte de variação significativa nos parâmetros de motilidade total e duração de motilidade (Tab. 1 e 2).

**Tabela 1:** Motilidade total do sêmen de Curimatã comum ativado com solução de glicose ou frutose nas concentrações de 50, 125 ou 200 mM (média±desvio padrão).

Motilidade Total (%)			
	50 mM	125 mM	200 mM
Glicose	96,6 ±4,14	96,6±2,79	95,81±6,46
Frutose	93,85±3,17	93,11±9,34	94,45±2,89

Os dados da duração da motilidade (Tab. 2) do presente experimento tiveram médias altas em relação ao resultado de Silva *et al* (2014), que caracterizou o sêmen *in natura* de *P. brevis* e obteve duração de motilidade média de 63,0±1,6 s quando a ativação foi realizada com água do próprio cultivo. Esse resultado superior, pode ter sido devido a utilização, na presente pesquisa, dos açúcares frutose e glicose, que possuem a função de fornecer energia (DÂMASO, 2001), nas soluções de ativação.

No entanto, devido a diferença na concentração dos solutos, era esperado que houvesse diferença também na duração da motilidade nas diferentes diluições porque a utilização de água destilada, que apresenta aproximadamente 0 mOsm/Kg, é reportada pelos autores por promover alta taxa de motilidade, entretanto com duração menor da duração da motilidade (COSSON, 2004; ALAVI *et al.*, 2006; GONÇALVES *et al.*, 2013). Estes resultados com água destilada, sugerem que quanto menor a osmolaridade da solução, mais rápida será a ativação e mais curta a duração da motilidade. Assim, esse resultado também pode ter sido consequência do método de análise subjetiva, de análise da duração, gerando imprecisão na avaliação.

**Tabela 2:** Duração da motilidade do sêmen de Curimatã comum ativado com solução de glicose ou frutose nas concentrações de 50, 125 ou 200 mM (média ± desvio padrão).

Duração da Motilidade (segundos)			
	50 mM	125 mM	200 mM
Glicose	64,66±12,64	72,33±12,58	72,5±9,6
Frutose	65,16±18,19	77,5±26,67	77,33±12,27

\*Endereço para correspondência:  
[jessica.upinheiro@outlook.com](mailto:jessica.upinheiro@outlook.com)

Em relação à VCL (Tab. 3), nos tratamentos com glicose houve variação entre as três concentrações e a glicose a 200 mM foi melhor que as demais ( $p < 0,05$ ). Em relação a frutose, o tratamento de 200 mM foi superior ( $p < 0,05$ ), diferindo do tratamento de 50 mM e não houve diferença estatística entre a utilização de glicose ou frutose nas soluções de ativação de mesma concentração.

**Tabela 3.** Velocidade curvilinear (VCL) do sêmen de Curimatã comum ativado com solução de glicose ou frutose nas concentrações de 50, 125 ou 200 mM (média±desvio padrão).

VCL ( $\mu\text{m/s}$ )			
	50 Mm	125 mM	200 mM
<b>Glicose</b>	65,51±7,41 <sup>aA</sup>	84,11±13,63 <sup>bA</sup>	105,53±16,73 <sup>cA</sup>
<b>Frutose</b>	71,93±11,27 <sup>aA</sup>	81,66±10,75 <sup>abA</sup>	92,31±13,10 <sup>bA</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferença entre diluições.

Letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferença entre ativadores ( $p < 0,05$ ).

No parâmetro VSL (Tab. 4), nos tratamentos com glicose, a solução de 200 mM foi superior ( $p < 0,05$ ) a 50 mM. Os tratamentos com frutose não demonstraram diferença estatística e em relação à utilização de glicose ou frutose, a glicose 200 mM foi superior ( $p < 0,05$ ) à frutose 200 mM.

**Tabela 4:** Velocidade em linha reta (VSL) do sêmen de Curimatã comum ativado com solução de glicose ou frutose nas concentrações de 50, 125 ou 200 mM (média±desvio padrão).

VSL ( $\mu\text{m/s}$ )			
	50 mM	125 mM	200 mM
<b>Glicose</b>	35,05±4,19 <sup>aA</sup>	45,61±10,67 <sup>abA</sup>	53,21±9,49 <sup>bA</sup>
<b>Frutose</b>	42,68±8,21 <sup>aA</sup>	44,1±8,72 <sup>aA</sup>	40,86±6,57 <sup>ab</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferença entre diluições.

Letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferença entre ativadores ( $p < 0,05$ ).

Em relação a VAP, nos tratamentos com glicose, o tratamento de 200 mM foi superior ( $p < 0,05$ ) aos demais. Não houve diferença entre os tratamentos em que foi utilizada a frutose e não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre a utilização de frutose ou glicose entre as concentrações (Tab. 5).

**Tabela 5:** Velocidade média do percurso (VAP) do sêmen de Curimatã comum ativado com solução de glicose ou frutose nas concentrações de 50, 125 ou 200 mM (média±desvio padrão).

VAP ( $\mu\text{m/s}$ )			
-------------------------	--	--	--

\*Endereço para correspondência:

[jessica.upinheiro@outlook.com](mailto:jessica.upinheiro@outlook.com)

	50 mM	125 mM	200 mM
<b>Glicose</b>	51,18±6,82 <sup>aA</sup>	67,43±15,51 <sup>aA</sup>	87,75±13,86 <sup>Ba</sup>
<b>Frutose</b>	59,63±11,14 <sup>aA</sup>	66,03±9,87 <sup>aA</sup>	76,2±14,39 <sup>Aa</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferença entre diluições.

Letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferença entre ativadores ( $p < 0,05$ ).

Nas tabelas 3, 4 e 5, os tratamentos com glicose apresentaram sempre a concentração de 200 mM como melhor tratamento. Esses resultados condizem com a proximidade da osmolaridade do tratamento de 200 mM (200 mOsm) com a osmolaridade média do sêmen da espécie de 276,18 mOsm/kg (LOPES *et al.*, 2014), acompanhando os resultados de Martínez (2011) que utilizou várias concentrações de glicose como ativador seminal de *P. magdalenae* e obteve bons resultados quando a osmolaridade da solução se aproximou da osmolaridade seminal da espécie pesquisada, concluindo que as maiores velocidades e percentagens da mobilidade são alcançadas com osmolaridades menores e muito próximo ao plasma seminal.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados, concluiu-se que a utilização de solução com glicose a 200 mM é a mais recomendada para a ativação do sêmen de *P. brevis* em relação aos tratamentos testados.

### REFERÊNCIAS

- ADAMES, M.S.; TOLEDO, C.P.R.; NEUMANN, G.; BUZZI, A.H.; BURATTO, C.N.; PIANA, P.A.; BOMBARDELLI, R.A. Optimization of the sperm: oocyte ratio and sperm economy in the artificial reproduction of *Rhamdia quelen* using fructose as a sperm motility modulator. *Animal Reproduction Science*, v.161, p.119-128, 2015.
- ALAVI, S.M.H.; COSSON, J. Sperm motility in fishes. Effects of ions and osmolality: A review. *Cell Biology International* n.30, p.1-14, 2006.
- BOZKURT, Y.; GRETMEN F.O.; KOKÇU. O.; ERÇİN, U. Relationships between seminal plasma composition and sperm quality parameters of the *Salmo trutta macrostigma* (Dumeril, 1858) semen: with emphasis on sperm motility. *Czech Journal of Animal Science*, v.8, n.56, p.355-364, 2011.
- COSSON, J. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. *Aquaculture International*, v.12, p.6985, 2004.
- GONÇALVES, A.C.S.; NASCIMENTO, A.F.; COSTA, A.C.; LEAL, M.C.; VIVEIROS, A.T.M. Initiation and suppression of sperm motility is osmolality-dependent in two South American fish species: streaked prochilod *Prochilodus lineatus* and piracanjuba *Brycon orbignyanus*. *Animal Reproduction*, v.10, p.62-70, 2013.

\*Endereço para correspondência:

[jessica.upinheiro@outlook.com](mailto:jessica.upinheiro@outlook.com)

Ciência Animal, v.29, n.1, p.05-10, 2019. Supl. 1 (XXIII Sem. Universitária UECE)

LOPES, J.T.; PINHEIRO, J.P.S.; NUNES, L.T.; PINHEIRO, R.R.R.; SOUZA, M.E.M.; ALMEIDA, P.S.; NASCIMENTO, R.V.; CAMPELLO, C.C.; SALMITO-VANDERLEY, C.S.B. Avaliação de diferentes crioprotetores e taxas de diluição na criopreservação seminal de *Prochilodus brevis*. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.38, n.3, p.170-175, 2014.

MARTÍNEZ, G. Efectos de la concentración de glucosa sobre la activación de la movilidad espermática en bocachico *Prochilodus magdalenae* (Pisces, Characiformes). Revista de Medicina Veterinária e Zootecnia de Córdoba, v.16, n.2, p.2554-2563, 2011.

NEUMANN, G. Frutose como ativador e crioprotetor espermático do Surubim do Iguçu (*Steindachneridion melanodermatum*). Monografia Curso de Engenharia de Pesca Universidade Estadual do Oeste do Paraná 2012. 38p.

SILVA, A.C.; GALVÃO, A.S.; TEIXEIRA, E.G.; FARIAS, W.R.L. Caracterização e resfriamento do sêmen de curimatã, *Prochilodus brevis* (Steindachner, 1874). Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v.8, n.3, p.105–129, 2014.

\*Endereço para correspondência:  
[jessica.upinheiro@outlook.com](mailto:jessica.upinheiro@outlook.com)