**Caracterização do sêmen da tainha ( *Mugil liza)***

**Caio Cesar França Magnotti1; Jorgelia de Jesus Pinto Castro2; Gabriel Passini3; Cristina Vaz Avelar de Carvalho4; Morgana Angelo5; Pedro Henrique Hesxel6; Mauricio Lisboa Koch7 ; Vinicius Rozanni Cerqueira8**

1caio.magnotti@hotmail.com .Doutor em Aquicultura/UFSC.2jeisakm@hotmail.com. Engenheira de Pesca/UEMA 2. 3Gabrielpassini85@yahoo.com .Doutor em Aquicultura-UFSC; 4cvacarvalho@gmail.com.Pós-Doc/UFSC; 5morgnaangelo@hotmail.com. Acadêmica de Engenharia de Aquicultura/UFSC;6pphexsel@gmail.com.Engenheiro de Aquicultura/UFSC; 7maukoch22@hotmail.com.Acadêmico de Engenharia de Aquicultura/UFSC 8vinicius.cerqueira@ufsc.br.Professor Titular/UFSC

**RESUMO**

O trabalho teve como objetivo descrever aspectos da biologia espermática da tainha (*Mugil liza*) selvagem e de cativeiro em primeira maturação. Após a coleta do sêmen dos dois grupos em estudo, foram analisados os parâmetros: motilidade espermática para análise do tempo e porcentagem de células móveis através da escala com valores de 0 a 5 como sugerido por Fauvel, Savoye, Dreanno, Cosson & Suquet ([1999](#_ENREF_31)), concentração espermática no qual sêmen foi fixado em formalina tamponada a 4% e contado na câmara de Neubauer. Comparativamente, para determinação da concentração espermática, foi empregada a técnica de espermatócrito, integridade de membrana plasmática foi feita pelo método da eosina-nigrosina, de acordo com Maria *et al.* ([2010](#_ENREF_48)). Foram encontradas diferenças significativas no volume de sêmen, na densidade dos espermatozoides, espermatócrito, na integridade da membrana plasmática e na morfometria entre os grupos amostrados, demonstrando que a idade dos peixes e as características individuais influenciam diretamente na qualidade do sêmen.

**Palavras-chave:** Espermatozoide; Piscicultura marinha; Reprodução

**ABSTRAT**

The object of the present work was to describe the sperm biology of lebranche mullet (Mugil liza) in the wild and in captivity at the time of first sexual maturity. After a semen collection of the two groups under study, the parameters were analyzed: sperm motility for analysis of time and percentage of cells moved through the scale with values from 0 to 5 as suggested by Fauvel, Savoye, Dreanno, Cosson & Suquet (1999) ), Spermatic concentration without qualification in fixed 4% buffered formalin and counted in the Neubauer chamber. In order to determine sperm concentration, a spermatocrit technique, plasma membrane integrity created by the eosin-nigrosin method was used, according to Maria et al. (2010). Significant differences were found in volume of semen, sperm density, spermatocrit, sperm viability and morphometry between the groups studied, showing that the origin, age and individual characteristics of the fish have a direct influence on sperm quality.

**Key words:** Marine fish farming; Reproduction; Spermatozoa

**1-INTRODUÇÃO**

A reprodução artificial em peixes necessita-se de uma grande quantidade e boa qualidade de espermatozoides para o sucesso da fertilização. São muitas as razões que justificam a coleta e armazenamento de sêmen de qualidade dentre eles, reduz estresse de reprodutores, facilita a rotina dentro de laboratório de reprodução, resolve problema de desova assíncronas, além da manutenção da viabilidade genética para melhoramento de espécies e de populações naturais (CAROSFELD et al., 2003; VIVEIROS & GODINHO, 2009).

A avaliação das características seminais é importante na rotina de reprodução artificial em qualquer espécie de animal. Para descrição de um perfil espermático são analisadas as características físico-químicas do sêmen que são: volume, motilidade, vigor e concentração, pH e ainda características morfológicas (FONSECA, 1992).

A espécie em estudo pertence ao gênero *Mugil,* a tainha, *Mugil liza* (Valenciennes, 1836)é encontrada desde o Caribe até a Argentina (FROESE; PAULY, 2008; MENEZES *et al.*, 2010; DURAND *et al*.,2012; LEMOS, 2014). São peixes catádromos, com recrutamento dos juvenis em lagoas e estuários, seguido de um período de migração no mar para reprodução (VIEIRA, 1991; VIEIRA; SCALABRIN, 1991, ALBIERI; ARAUJO, 2010; LEMOS *et al*. 2014), a tainha possui características que a qualifica como uma alternativa para a piscicultura, tais como: ampla tolerância a salinidade (0 a 90) e a temperatura (3 a 36°C), elevada robustez e fácil manejo alimentar (NETO; SPACH, 1998; SAMPAIO *et al.*, 2001; SAMPAIO *et al.*, 2002; CERQUEIRA, 2004; MIRANDA-FILHO *et al.*, 2010). Objetivo do trabalho foi caracterizar os parâmetros seminais da tainha de cativeiro e selvagem.

# 2- MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados indivíduos de cativeiro e do ambiente natural onde foi feita a comparação nas características espermáticas. Os indivíduos de cativeiro são resultantes de desovas no ano de 2014, provenientes de peixes selvagens capturados e mantidos no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR – UFSC) e descrito por Passini *et al.* ([2015](#_ENREF_58)). Os indivíduos selvagens foram capturados com redes de arrasto pelos pescadores artesanais da região da Barra da Lagoa, Florianópolis – Brasil (27° 34’ 26” S, 48° 25’ 27” W) em 29 de junho e manipulados imediatamente após a captura. Para a coleta do sêmen foram utilizados 35 peixes de cativeiro, anestesiados com bezocaína, a região abdominal e genital foram limpas com água deionizada e secas com papel toalha para evitar contaminação. O sêmen foi coletado com seringas de 1 mL (com escala de 0,02 mL) depois de uma leve pressão abdominal e imediatamente guardados a 4±1 °C e protegidos da luz e analisados após 30 minutos.

A coleta e análise do sêmen dos peixes selvagens seguiram os mesmos procedimentos, exceto a etapa da anestesia. Posteriormente foi feita a motilidade espermática ativado com proporção de 1:10 (v:v) com uma solução de 35 de salinidade, pH 9 e 4±1 °C, por uma única pessoa, em um campo de visão selecionado aleatoriamente e intensidade de luz constante. O período de atividade flagelar foi medido com cronômetro desde o momento da ativação até a imobilidade de todos os espermatozoides. Para identificar a porcentagem de células móveis (%MC) foi utilizada uma escala com valores de 0 a 5 como sugerido por (FAUVEL et al.,[1999](#_ENREF_31)), onde: 0 = 100% de espermatozoides imóveis, e 1 = 0–20%; 2 = 20–40%; 3 = 40–60%; 4 = 60–80%; 5 = 80–100% de espermatozoides móveis. Foram realizadas 4 repetições para cada macho testado, a concentração espermática foi avaliada por meio da contagem em microscópio óptico (400x, Leica LCC50HD) das células espermáticas presentes nas amostras de sêmen, previamente diluídas (1:1000) em fixador de formalina tamponada a 4%; Comparativamente, para determinação da concentração espermática, foi empregada a técnica de espermatócrito, o sêmen foi colocado em capilares de hematócrito, com uma das extremidades selada com plastilina, e submetido à centrifugação 18.000 g por 25 minutos, em centrífuga para capilares. A leitura da massa celular das amostras centrifugadas e do volume de plasma seminal foi realizada com régua graduada, sendo os valores obtidos expressos em porcentagem. A integridade de membrana plasmática foi verificada pelo método da eosina-nigrosina, realizada de acordo com Maria *et al.* ([2010](#_ENREF_48)).

A correlação entre o espermatócrito e concentração espermática, e entre a integridade da membrana plasmática e porcentagem de células móveis foram determinados por analise de regressão linear (y=a+bx) e demonstrados de acordo com seu coeficiente de determinação (R2). Os valores em porcentagem foram transformados para arco-seno (y0,5) antes da análise estatística. Os demais resultados foram submetidos a ANOVA de uma via (p<0,05). Teste Levene foi utilizado para verificar a homocedasticidade e o teste Shapiro Wilk para verificar a normalidade. Quando diferenças significativas foram identificadas na análise de variância, o teste Tukey de separação de médias foi aplicado com a ajuda do software Statistica 7.

# 3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises das características seminais são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros zootécnicos e seminais dos machos de diferentes origens de tainha (*Mugil liza*) (n=15).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Cativeiro | Selvagem |
| Comprimento (cm) | 28,3 ± 1,5b | 51,5 ± 2,2a |
| Peso (g) | 231,9 ± 34,0b | 1390,0 ± 187,2a |
| Vol. sêmen (µL) | 45,3 ± 33,4 | > 2000 |
| Conc. espermática (x109 mL-1) | 31,8 ± 2,9a | 24,9 ± 5,3b |
| Espermatócrito (%) | 85,9 ± 12,6b | 98,3 ± 1,6a |
| Integridade da memb. plasmática (%) | 96,9 ± 1,4a | 79,5 ± 12,9b |

Letras-sobre-escritas diferentes demonstram diferença significativa no teste Anova uma via (p<0,05)

Houve diferença significativa entre o tempo médio de motilidade entre os grupos, 183±38 s para cativeiro e 411±125 s para selvagem (p<0,05), sem diferença significativa entre a porcentagem de células móveis, 83,6±15,7% e 79,1±16,3%, respectivamente. Também foram observadas diferenças significativas nos resultados dos parâmetros entre os machos de cada grupo (Fig. 1).

Porém, o grupo de cativeiro apresentou uma maior uniformidade nos resultados dos parâmetros de tempo de motilidade com desvio padrão médio de 38 s, enquanto o grupo dos peixes selvagens apresentou desvio padrão de 125 s (p<0,05). A diferença entre os parâmetros de qualidade de sêmen entre machos selvagens e de cativeiro pode ser explicada pela diferença de idade e etapa do ciclo reprodutivo em que se encontram. A idade dos reprodutores tem influência significativa na qualidade do esperma ([Valdebenito *et al.*, 2015](#_ENREF_76); [Vuthiphandchai and Zohar, 1999](#_ENREF_78)). Vuthiphandchai & Zohar ([1999](#_ENREF_78)) reportam que os reprodutores de 3 anos de idade de striped bass, *Morone saxatilis*, produziam sêmen com melhor qualidade do que os de 1 e 12 anos. A idade dos peixes selvagens utilizados neste experimento provevalemente era é superior a 6 anos, pois apresentam média de comprimento total de 51 ± 2,2 cm, enquanto o tamanho médio de indivíduos de 5-6 anos é de 40,8 cm ([Gonzalez-Castro et al., 2009](#_ENREF_24); [Garbin et al., 2014](#_ENREF_23)), enquanto os de cativeiro tinham 11 meses. Para as espécies que tem ciclo reprodutivo anual como a *M. liza*, a qualidade do esperma também pode variar em função da época de reprodução e da frequência da desova ([Rurangwa *et al.*, 2004](#_ENREF_62)).



Figura 1. Tempo de motilidade (s) e porcentagem de motilidade (%) obtidos após a ativação dos espermatozoides dos machos de tainha (*Mugil liza*) (n=15)

Os resultados de integridade da membrana plasmática e porcentagem de células móveis apresentaram correlação positiva para os machos selvagens (R2 = 0,83) e de cativeiro (R2 = 0,81). Também foi verificado correlação positiva para os valores de concentração espermática e espermatócrito para machos de cativeiro (R2 = 0.84), mas não para os machos selvagens (R2 = 0.02). A correlação positiva entre densidade espermática e espermatócrito observada no grupo de cativeiro (R2 = 0,84) pode sinalizar que eles estavam sincronizados quanto a madurez das gonadas e aptos para reprodução. Os peixes selvagens não apresentaram essa correlação entre estes parâmetros (R2 = 0,02), influenciado pela pequena porção de plasma encontrada em todos os indivíduos (± 1,5%) mesmo quando apresentavam diferentes densidades espermáticas. Esta característica é um indício de que os peixes selvagens capturados durante a sua migração reprodutiva, ainda não apresentam total desenvolvimento gonadal, e precisariam de um tempo e/ou distância maior de migração para estarem totalmente maduros. O local de captura, Florianópolis – Santa Catarina, está localizado no trajeto migratório das tainhas, a aproximadamente 350 km ao sul das áreas de pico de desova, que foram identificadas no nordeste dos Estados de Santa Catarina e Paraná ([Lemos *et al.* 2014](#_ENREF_11))**.**

**4- CONCLUSÃO**

Existe diferenças entre a qualidade do sêmen entre os grupos de indivíduos selvagens e de cativeiro. O grupo de cativeiro apresentou sêmen com parâmetros volume de 45,3 µL; concentração espermática de 31,8 x109 mL-1, 85,9% de espermatócrito, integridade de membrana plasmática 96,9% melhores do que os selvagens, que apresentaram parâmetros concentração espermática de 24,9 x109 mL-1, espermatócrito 98,3%, integridade da membrana 79,5%. Para verificação a real a influência destes fatores na reprodução, recomenda-se executar testes para verificar a taxa de fertilização de ovócitos.

**5- AGRADECIMENTOS**

Equipe do LAPMAR – UFSC, à comunidade de pescadores artesanais de Florianópolis pelo suporte à realização do trabalho e à CAPES projeto n° 23038.004323/2014-54 pelo apoio financeiro nos itens de custeio.

# 6- REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CAVALLI, R.; DOMINGUES, E.; HAMILTON, S. Development of open ocean marine fish farming in Brazil: possibilities and constraints. **R. Bras. Zootec**, 40: 155-164. 2011.

CERQUEIRA V.R. Cultivo de peixes marinhos. In: Aquicultura experiências brasileiras(ed. by Poli, C.R., Poli, A.T., ANDREATTA, E.R., BELTRAME, E.). Editora UFSC, Florianópolis/SC, 2004p.369-406.

DURAND, J. D.; K. N. SHEN; CHEN, W. J. ; JAMANDRE, B.W.; H. BLEL ; DIOP, K.; NIRCHIO, M..; GARCIA DE LEÓN, F.J. ; WHITFIELD, A.K.; CHANG, C. W. ; BORSA, P. Systematic of the grey mullets (Teleostei: Mugiliformes: Mugilidae): molecular phylogenetic evidence challenges two centuries of morphology-based taxonomy. *Mol. Phylogenet. Evol*. 64(1): 79-92, 2012.

FONSECA, V.O.; VALLE FILHO, F.R.; ABREU, J.J.; MIES FILHO, A. Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **ANAIS.** Belo Horizonte, 69 p., 1992.

FROESE, R.; D. PAULY. **FishBase**. Disponivel online em: http:/ /www.fishbase.org. [Accessed: 18/08/2017

IBAMA . Relatório de reunião Técnica para ordenamento da pesca da tainha (*Mugil platanus*, *M. liza*) na região Sudeste/Sul do Brasil. (ed IBAMA). Instituto brasileiro do meio ambiente e dos recursos naturais renováveis, 2007. Itajaí pp. 85

LEMOS, V. M. et al. Migration and reproductive biology of *Mugil liza* (Teleostei: Mugilidae) in south Brazil. **Journal of Fish Biology** 85(3): 671-6872014.

MARIA, A.N.; AZEVEDO, H.C.; SANTOS, J.P.; SILVA, C.A. CARNEIRO, P.C.F. Semen characterization and sperm structure of the Amazon tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of Applied Ichthyology**, *26*(5): 779-783. 2010.

MENEZES, N.A.; OLIVEIRA, C.; NIRCHIO, M. (2010)An old taxonomic dilemma: the identity of the western South Atlantic lebranche mullet (Teleostei: Perciformes: Mugilidae). **Zootaxa** 2519, 59-68.

MIRANDA-FILHO, K. C.; *et al*. **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil***.* UFSM, Santa Maria, 2010. p. 541-552

NETO, J.C.F. SPACH, H.L. Sobrevivência de juvenis de *Mugil platanus* Günther, 1880 (Pisces, Mugilidae) em diferentes salinidades. **Boletim Do Instituto De Pesca,** *26*: 13-17,1998.

PASSINI G., *et al*. Reprodução e larvicultura da tainha (Mugil liza) no Estado de Santa Catarina. In: **FENACAM & LACQUA/SARA (WAS***)*, Brasil. 2015,

RURANGWA, E.; KIME, D.E.; OLLEVIER, F. NASH, J.P. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. **Aquaculture,** *234*(1-4): 1-28, 2004.

SAMPAIO, L.A.; FERREIRA, A.H.; TESSER, M.B. Effect of stocking density on laboratory rearing of mullet fingerlings, *Mugil platanus* (Günther, 1880). **Acta Scientiarum,** 23, 471–475, 2001.

SAMPAIO, L.A.; WASIELESKY, W.; MIRANDA-FILHO, K.C. Effect of salinity on acuty toxicity of ammonia and nitrite to juvenile *Mugil platanus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology** 68, 668–674, 2002.

VIEIRA, J.P.; SCALABRIN, C. Migração reprodutiva da Tainha (Mugil platanus, Günther, 1880) no sul do Brasil. *Atlantica* 13, 131–141. 1991.

VALDEBENITO, I.I.; GALLEGOS, P.C.; EFFER, B.R. Gamete quality in fish: evaluation parameters and determining factors. **Zygote** 23, 177-197, 2015.