



Aquicultura e Pesca: Adversidades e Resultados

**Alan Mario Zuffo
(Organizador)**

Alan Mario Zuffo
(Organizador)

Aquicultura e Pesca: Adversidades e Resultados

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Geraldo Alves

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

A656 Aquicultura e pesca: adversidades e resultados [recurso eletrônico] /
Organizador Alan Mario Zuffo. – Ponta Grossa (PR): Atena
Editora, 2019.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-227-2

DOI 10.22533/at.ed.272192903

1. Aquicultura. 2. Peixes – Criação. 3. Pesca. I. Zuffo, Alan Mario.

CDD 639.3

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de
responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos
autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “Aquicultura e Pesca Adversidades e Resultados” aborda uma série de capítulos de publicação da Atena Editora, apresenta, em seus 22 capítulos, conhecimentos tecnológicos da aquicultura e da pesca.

O Brasil é privilegiado para as atividades de aquicultura e a pesca devido principalmente as condições favoráveis. Todavia, é necessário novos conhecimentos e tecnologias para o país tornam uma potência aquícola.

Vários são os desafios das pesquisas, entre eles, destacam-se a área de reprodução e melhoramento de peixes, nutrição e alimentação de espécies aquícolas, conservação e sanidade dos recursos pesqueiros, processamento agroindustrial do pescado, dentre outras. Portanto, os novos conhecimentos e resultados dessas pesquisas tendem a completar lacunas vazias.

Este livro traz artigos alinhados com a aquicultura e a pesca. As transformações tecnológicas dessas áreas são possíveis devido o aprimoramento constante, com base em novos conhecimentos científicos.

Aos autores dos diversos capítulos, pela dedicação e esforços sem limites, que viabilizaram esta obra que retrata os recentes avanços científicos e tecnológicos, os agradecimentos do Organizador e da Atena Editora.

Por fim, esperamos que este livro possa colaborar e instigar mais estudantes e pesquisadores na constante busca de novas tecnologias para a aquicultura e a pesca, assim, garantir perspectivas de solução para o desenvolvimento do setor aquícola e as futuras gerações de forma sustentável.

Alan Mario Zuffo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA PARA TILÁPIAS CRIADAS EM VIVEIROS ESCAVADOS NO INSTITUTO FEDERAL FLUMINENSE (IFF) <i>CAMPUS CAMBUCI</i>	
<i>Kíssila França Lima</i>	
<i>Marize Bastos de Matos</i>	
<i>Wanderson Souza Rabello</i>	
<i>Geraldo Pereira Junior</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2721929031	
CAPÍTULO 2	6
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CRESCIMENTO EM CULTIVO DA MACROALGA <i>Gracilaria domingensis</i> (<i>Gracilariaceae, rhodophyta</i>) EM DISTINTAS METODOLOGIAS NO PARQUE AQUÍCOLA DA ENSEADA DA ARMAÇÃO DO ITAPOCOROY (PENHA, SANTA CATARINA)	
<i>Jaísa Vedana</i>	
<i>Gilberto Caetano Manzoni</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2721929032	
CAPÍTULO 3	18
AVALIAÇÃO SENSORIAL DO SALGADINHO TIPO “ <i>PETIT FOUR</i> ” ENRIQUECIDO COM FARINHA DE CAMARÃO	
<i>Aurea Veras Barbosa de Souza</i>	
<i>Diego Aurélio dos Santos Cunha</i>	
<i>Thalison da Costa Lima</i>	
<i>Hugo Moreira Gomes</i>	
<i>Leonildes Ribeiro Nunes</i>	
<i>Elaine Cristina Batista dos Santos</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2721929033	
CAPÍTULO 4	23
BIVALVES LÍMNICOS DA FAMÍLIA HYRIIDAE QUE INDICAM UM POTENCIAL PARA UM CULTIVO DE PÉROLAS NA REGIÃO TROPICAL DO BRASIL	
<i>Mara Rúbia Ferreira Barros</i>	
<i>Rafael Anaisce das Chagas</i>	
<i>Wagner César Rosa dos Santos</i>	
<i>Valdo Sena Abreu</i>	
<i>Rosana Esther Oliveira da Silva</i>	
<i>Marko Herrmann</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2721929034	
CAPÍTULO 5	28
CARACTERIZAÇÃO DA CAPTURA DA PESCADA AMARELA (<i>Cynoscion acoupa Lacèpede, 1802</i>) NO PORTO DO PERAL, COMUNIDADE DE GUAJERUTIVA, CURURUPU-MA	
<i>Yago Bruno Silveira Nunes</i>	
<i>Ladilson Rodrigues Silva</i>	
<i>Mariana Barros Aranha</i>	
<i>Marina Bezerra Figueiredo</i>	
<i>Zafira da Silva Almeida</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2721929035	

CAPÍTULO 6	32
CARACTERIZAÇÃO DA FAUNA ZOOPLANCTÔNICA ASSOCIADA ÀS LARVAS DE XIPHIOIDEI CAPTURADAS NO SUDESTE DO BRASIL	
<i>Danielle Castor-Santos</i>	
<i>Alberto Ferreira de Amorim</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2721929036	
CAPÍTULO 7	38
CARACTERIZAÇÃO DA ICTIOFAUNA ASSOCIADA À PESCA DO CAMARÃO-SETEBARBAS (<i>Xiphopenaeus kroyeri</i>) NA PRAIA DO PEREQUÊ, GUARUJÁ-SP	
<i>Lays Gabriela Cardoso</i>	
<i>Júlia Ferreira dos Santos Domingos</i>	
<i>Jorge Luís dos Santos</i>	
<i>Alberto Ferreira de Amorim</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2721929037	
CAPÍTULO 8	54
CARACTERIZAÇÃO ZOOPLANCTÔNICA EM AÇUDES TEMPORÁRIOS NO SERTÃO DO PAJEÚ, SERRA TALHADA, PE	
<i>Rosimar Vieira dos Santos</i>	
<i>Anderson Samuel Silva</i>	
<i>Elton José de França</i>	
<i>Marcus Vinicius Lourenço de Mello</i>	
<i>Ugo Lima Silva</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2721929038	
CAPÍTULO 9	64
COMPOSIÇÃO DO ICTIOPLÂNCTON NO ESTUÁRIO DO RIO PACIÊCIA - MARANHÃO: RESULTADOS PARCIAIS	
<i>Daniele Costa Batalha</i>	
<i>Mariana Barros Aranha</i>	
<i>Nathã Costa de Sousa</i>	
<i>Marina Bezerra Figueiredo</i>	
DOI 10.22533/at.ed.2721929039	
CAPÍTULO 10	70
ESTIMACIÓN DE LA LONGITUD TOTAL (LT) DE PRIONACE GLAUCA TIBURÓN AZUL A PARTIR DE LA LONGITUD INTERDORSAL (LID) ILO - PERÚ. UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA. ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA	
<i>Alfredo Maquera Maquera</i>	
<i>Alejandro Marcelo Gonzales Vargas</i>	
DOI 10.22533/at.ed.27219290310	
CAPÍTULO 11	76
MORFOLOGIA DO CORAÇÃO DE TUBARÃO-ANEQUIM (<i>Isurus oxyrinchus</i>) E AGULHÃO-NEGRO (<i>Makaira nigricans</i>)	
<i>André Luiz Veiga Conrado</i>	
<i>Thierry Salmon</i>	
<i>Alberto Ferreira de Amorim</i>	
<i>Carlos Eduardo Malavasi Bruno</i>	
DOI 10.22533/at.ed.27219290311	

CAPÍTULO 12 82

PRESENÇA DA MACROALGA DO GÊNERO GRACILARIA NA RESERVA EXTRATIVISTA MARINHA DO PIRAJUBAÉ, FLORIANÓPOLIS/SC

Camila Pereira Bruzinga
Luciany do Socorro de Oliveira Sampaio
Robson Mattos Abrahão
Aimê Rachel Magenta Magalhães

DOI 10.22533/at.ed.27219290312

CAPÍTULO 13 95

MAIN PROMOTED ACTIONS OF COASTAL MANAGEMENT AT FUTURO BEACH IN THE CITY OF FORTALEZA - CE

Diego Aurélio dos Santos Cunha
Rafael Santos Lobato
Mariana Barros Aranha
Aleff Paixão França
André Felipe Mello Portelada
Derykeem Teixeira Amorim Rodrigues
Alline Vieira Coelho
Lyssandra Kelly Silva Ferreira
Isadora Líria Nunes De Alencar

DOI 10.22533/at.ed.27219290313

CAPÍTULO 14 101

PROTOCOLOS DE COLETA DE FEZES DO LAMBARI PARA ESTUDO DE DIGESTIBILIDADE

João Gabriel de Carvalho
Mayara de Moura Pereira
Daniela Castellani
Giovani Sampaio Gonçalves
Eduardo Gianini Abimorad

DOI 10.22533/at.ed.27219290314

CAPÍTULO 15 110

QUALIDADE DA CARNE MECANICAMENTE SEPARADA (CMS) DE GUAIVIRA OLIGOPLITES SALIENS (BLOCH, 1793)

Mayumi Oshiro Costa
Érika Fabiane Furlan

DOI 10.22533/at.ed.27219290315

CAPÍTULO 16 121

RECUPERAÇÃO DE LARVAS *Nodipecten nodosus* (L. 1758) TRANSPORTADAS EM DIFERENTES TEMPERATURAS E EMBALAGENS

Robson Cardoso da Costa
Gilberto Caetano Manzoni
Francisco Carlos da Silva
Carlos Henrique Araújo de Miranda Gomes
Claudio Manoel Rodrigues de Melo

DOI 10.22533/at.ed.27219290316

CAPÍTULO 17 127

REGISTROS DE *Ageneiosus ucayalensis* (CASTELNAU, 1855), (*Osteichthyes: auchenipteridae*), NO MUNICÍPIO DE VIANA, ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL

Jailza Freitas
Clenilde Alves de Oliveira
Alline Vieira Coelho
Marina Bezerra Figueiredo
Zafira da Silva de Almeida

DOI 10.22533/at.ed.27219290317

CAPÍTULO 18 132

RENDIMENTO DO FILÉ DE ARRAIA (*Potamotrygon motoro*) CAPTURADA NO MUNICÍPIO DE SANTA QUITÉRIA, MARANHÃO, BRASIL

Alline Vieira Coelho
Elaine Cristina Batista dos Santos
Thalison da Costa Lima
Jailza Freitas
Isadora Líria Nunes de Alencar
Jackellynne Fernanda Farias Fernandes
Diego Carvalho Viana

DOI 10.22533/at.ed.27219290318

CAPÍTULO 19 137

RENDIMENTO E PERDAS POR COCÇÃO DO FILÉ DE PACAMÃO (*Lophiosilurus alexandri*) SILURIFORME, PSEUDOPIMELODIDAE

Diego Aurélio dos Santos Cunha
Ana Larissa Silva Barros
Aurea Veras Barbosa de Souza
Lyssandra Kelly Silva Ferreira
Elaine Cristina Batista dos Santos
Diego Carvalho Viana

DOI 10.22533/at.ed.27219290319

CAPÍTULO 20 141

SEPARAÇÃO DE OVÓCITOS DE SURUBIM-DO-PARAÍBA UTILIZANDO DIFERENTES METODOLOGIAS: ENZIMÁTICAS X MECÂNICA

Taís da Silva Lopes
Danilo Caneppele
Eduardo Antonio Sanches
Elizabeth Romagosa

DOI 10.22533/at.ed.27219290320

CAPÍTULO 21 148

TOTAL LIPID NUTRITIONAL QUALITY OF THE ADIPOSE TISSUE FROM THE ORBITAL CAVITY IN NILE TILAPIA FROM CONTINENTAL AQUACULTURE

Álison Bruno Borges de Sousa
Oscar de Oliveira Santos Júnior
Jesuí Vergílio Visentainer
Neiva Maria de Almeida

DOI 10.22533/at.ed.27219290321

CAPÍTULO 22	160
TRANSFERÊNCIA TECNOLÓGICA DA OSTREICULTURA EM COMUNIDADE DE MARISQUEIROS DO MUNICÍPIO DE RAPOSA, MARANHÃO	
<i>Deizielle Saboia Mendes Martins</i>	
<i>Josinete Sampaio Monteles</i>	
<i>Paulo Protásio de Jesus</i>	
<i>Yllana Ferreira Marinho</i>	
<i>Ícaro Gomes Antônio</i>	
<i>Izabel Cristina da Silva Almeida Funo</i>	
DOI 10.22533/at.ed.27219290322	
SOBRE O ORGANIZADOR.....	174

SEPARAÇÃO DE OVÓCITOS DE SURUBIM-DO-PARAÍBA UTILIZANDO DIFERENTES METODOLOGIAS: ENZIMÁTICAS X MECÂNICA

Taís da Silva Lopes

Instituto de Pesca-APTA, S.A.A., São Paulo, SP.
tais.peixegen@gmail.com

Danilo Caneppele

Companhia Energética de São Paulo, Paraibuna, SP.
danilo.caneppele@cesp.com.br

Eduardo Antonio Sanches

Universidade Estadual Paulista- UNESP –
Câmpus Experimental de Registro, São Paulo, SP.
sanches@registro.unesp.br

Elizabeth Romagosa

Instituto de Pesca/APTA, S.A.A., São Paulo, SP.
eromagosa@pesca.sp.gov.br

RESUMO: O presente trabalho objetivou avaliar a viabilidade dos ovócitos de surubim-do-Paraíba após separação utilizando-se diferentes enzimas e concentrações *versus* separação mecânica. Para isso, fêmeas de surubim-do-Paraíba foram anestesiadas e decaptadas para coleta dos ovários (imediatamente colocados em solução de Hank). Em seguida, fragmentos de mesmo tamanho (2X2cm) foram submetidos aos seguintes tratamentos: T1- Trypsina [0,2M], T2- Trypsina [0,4M], T3-Colagenase [0,2M], T4- Colagenase [0,4M], T5-Hialuronidase [0,2M], T6-Hialuronidase [0,8M] e C (controle)-separação mecânica, onde permaneceram em banhos de 30 minutos, com seis repetições cada. Após banho enzimático os ovócitos foram

lavados três vezes com HBSS, e passaram por peneiras de diferentes malhas para análise da viabilidade por integridade da membrana (TB) e migração da vesícula germinativa (GVBT). O método de separação mais eficiente foi o mecânico, seguido pelo enzimático com tripsina 0,4M.

PALAVRAS-CHAVE: ovócitos isolados, enzimas, Tripsina, Colagenase, Hialuronidase.

ABSTRACT: The present study aimed to evaluate the viability of the oocytes of the Paraíba surubim after separation using different enzymes and concentrations versus mechanical separation. For this, females of surubim-do-Paraíba were anesthetized and decaptados to collect the ovaries (immediately placed in Hank's solution). Then, fragments of the same size (2X2cm) were submitted to the following treatments: T1- Trypsin [0.2M], T2-Trypsin [0.4M], T3-Collagenase [0.2M], T4-Collagenase [0.4M], T5-Hyalurony [0.2M], T6-Hyalurony [0.8M], and C (control) -separation mechanics, where they remained in 30-minute baths with six replicates each. After an enzymatic bath the oocytes were washed three times with HBSS and passed through sieves of different mesh for viability analysis by membrane integrity (TB) and germinal vesicle rupture (GVBT). The most efficient separation method was the mechanical one, followed by the enzyme with 0.4M trypsin.

KEYWORDS: isolated oocyte, enzymes, Trypsin, Collagenase, Hyaluronidase.

1 | INTRODUÇÃO

A preservação dos recursos genéticos para a manutenção da vida aquícola tem se tornado cada vez mais relevante nos últimos anos. As populações naturais de peixes, de forma geral, estão ameaçadas, principalmente devido à pesca excessiva e poluição ambiental. Problema esse que também vem acontecendo como o surubim-do-Paraíba, *Steindachneridion parahybae*, uma espécie endêmica, natural da bacia do rio Paraíba do Sul, SP, que está na lista do Livro Vermelho de Espécies da Fauna Brasileira (MMA, 2008), e é considerada uma das espécies em condições críticas de extinção (IBAMA, 2009).

A criopreservação de gametas de peixes possibilita a preservação do genoma de espécies ameaçadas de extinção, aumentando a representação destes animais, assim como de animais para fins de produção, evitando perdas de material genético (Streit et al., 2014).

Para a preservação de gametas femininos vem sendo testados oócitos maduros, fragmentos ovarianos e oócitos imaturos. Os oócitos maduros seriam uma alternativa perfeita para criopreservação, por ser de fácil manipulação, não necessitar sacrificar o animal, e poderiam ser descongelados e imediatamente fertilizados, sem a necessidade de maturação *in vitro*. Porém trabalhos utilizando este estágio, em diferentes espécies, tem verificado que estes apresentam tanto toxicidade aos crioprotetores (Plachinta et al., 2004; Lopes et al., 2018), quanto alta sensibilidade ao frio (Isayeva et al., 2004; Zhang et al., 2005).

A utilização do tecido ovariano, por outro lado, parece ser promissora, visto que contem múltiplos folículos imaturos com pequeno tamanho, resultando em alta área de superfície em relação ao volume, maior permeabilidade da membrana, bem como ausência de córion totalmente formado (Marques et al., 2015). Porém, para utilização destes estágios de desenvolvimento, há necessidade que um grande número de ovócitos sejam isolados dos ovários, o que faz dessa etapa um obstáculo para estudos com criopreservação destes gametas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade dos ovócitos de surubim-do-Paraíba após separação utilizando-se diferentes enzimas e concentrações *versus* separação mecânica.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Estação de Hidrologia e Aquicultura da CESP (Companhia de Energia de São Paulo, na cidade de Paraibuna, SP, Brasil (23°24'54"S;

45°35'52"W), usando estoque de reprodutores originados de reprodução induzida de espécies selvagens da Estação de Aquicultura (F1). Estes peixes foram mantidos em tanques (200 m²) com parede de concreto e fundo de terra, e receberam dieta comercial extrusada para peixes carnívoros, contendo 40% de proteína na taxa de 5% de biomassa/semana, oferecida duas vezes ao dia, as 8 e 16 horas, três vezes por semana.

Em outubro/15, fêmeas (não-induzidas) foram anestesiadas e decaptadas para remoção dos ovários (imediatamente colocados em solução de Hank) para em seguida passar por separação enzimática dos ovócitos em estágios iniciais de desenvolvimento, utilizando-se os seguintes tratamentos: T1- Tripsina [0,2M], T2- Tripsina [0,4M], T3-Colagenase [0,2M], T4- Colagenase [0,4M], T5-Hialuronidade [0,2M], T6-Hialuronidade [0,8M] e C (controle)- com separação mecânica. Fragmentos do mesmo tamanho (2X2cm) de ovários foram submetidos aos tratamentos em banhos de 30 minutos, com seis repetições cada. Após banho enzimático os ovócitos foram lavados três vezes com HBSS, e passaram por peneiras de diferentes malhas (0,8 mm e 1,8 mm) para separação dos ovócitos maiores (Figura 1). Foram considerados uma única amostra de ovócitos em estádios iniciais (diâmetro <1,7 mm). Para avaliação dos resultados, foram utilizados os testes de viabilidade por coloração com Azul de Tripán (TB, 0,2% por 5 min), para leitura da integridade da membrana; e maturação *in vitro* até o momento da quebra da vesícula germinativa (GVBD, incubados em meio com 50% de Leibotz-15, por 24h para se tornar translúcido), ambos visualizados em Estetoscópio Óptico.

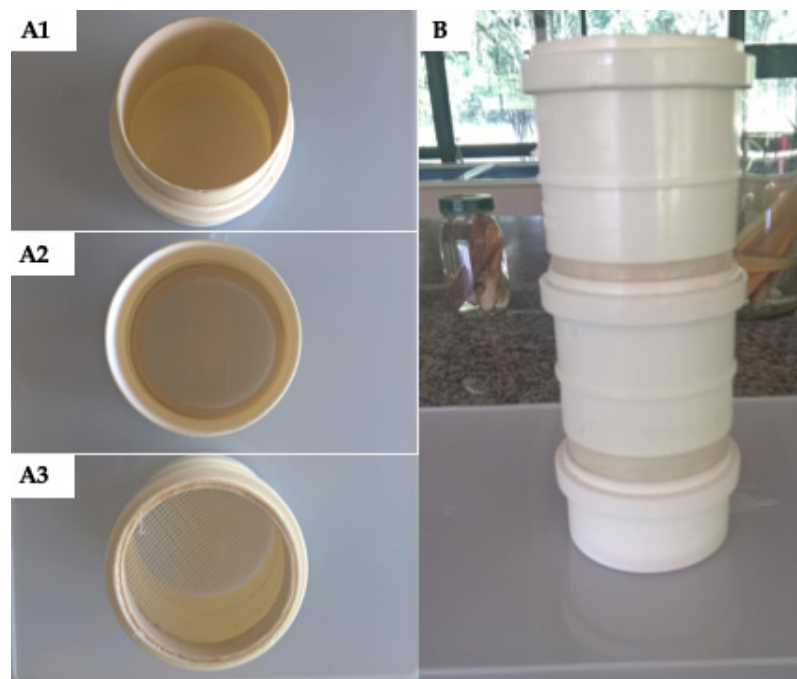


Fig. 1. Estrutura de peneiras em PVC, utilizando malhas com diferentes diâmetros de espessura. A1. Fundo; A2. Malha com 0,8 mm de espessura; A3. Malha com 1,8 mm de espessura; B. Peneiras encaixadas para passagem dos ovócitos.

Os resultados foram submetidos a análise de variância (one-way ANOVA) ao nível de 7% de significância. Em caso de efeito significativo, foi aplicado o teste de Duncan, para comparação de médias, ao mesmo nível de significância. As análises estatísticas foram realizadas pelo software estatístico Statistica 9.0.

Esta metodologia foi aprovada pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal do Instituto de Pesca de São Paulo (CEEAIIP) pelo protocolo número 05/2017.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de viabilidade dos ovócitos após tratamentos podem ser vistos nas Figuras 2 e 3. A separação de oócitos imaturos mostra-se necessária, pois estes tem demonstrado maior resistência aos protocolos de criopreservação, quando comparado aos oócitos maduros, tanto em testes de toxicidade a crioprotetores necessários em protocolos de criopreservação (Lopes et al., 2018), quanto em testes de sensibilidade ao frio (Isayeva et al. 2004; Tsai et al. 2009; Lopes et al., submetido para publicação). Porém, a utilização de fragmentos ovarianos de espécies que apresentam desenvolvimento gonadal apresentando diferentes estágios oocitários simultaneamente, como é o caso do *S. parahybae* (Honji et al., 2016), faz com que a separação dos oócitos seja de extrema necessidade, devido a presença de distintos estágios de maturação. Além disso, facilita a manipulação pós descongelamento, sincronizando a maturação *in vitro* de todo o lote de oócitos utilizados.

Sendo assim, o presente trabalho encontrou que pela observação da quebra da vesícula germinativa (GVBD) não houve diferença estatística entre o controle, com separação mecânica e as enzimas Tripsina (0,2M e 0,4M) e Colagenase (0,2M e 0,4M) (Figura 2). Guan et al. (2008) também avaliaram a utilização destas mesmas enzimas em diferentes concentrações para isolar ovócitos de *Danio rerio*, utilizando tempos distintos de exposição. Da mesma forma, como no presente trabalho, esses autores encontraram que a Hialuronidase foi a enzima menos eficiente na separação.

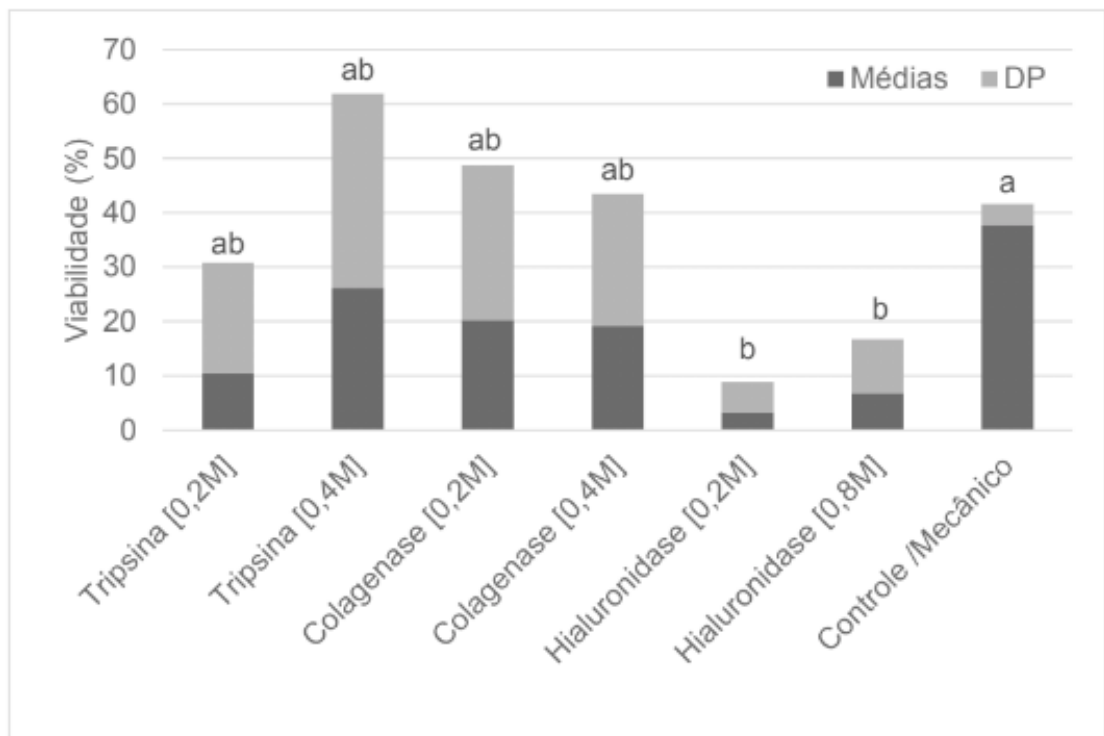


Fig. 2. Viabilidade dos ovócitos por maturação *in vitro* (GVBD). Controle =separação mecânica.
 *Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,07$). DP = Desvio Padrão.

Quando avaliada a viabilidade pela integridade das membranas (TB), o resultado se comportou de forma semelhante, com exceção para colagenase 0,2M, que assim como Hialuronidase (0,2 e 0,8M) foram significativamente menores que o controle. Teste semelhante utilizando ovócito de *D. rerio* mostraram como melhores resultados a utilização das enzimas Colagenase 0,4M, e Hialuronidase 1,6M em banhos de 10 min (Guan et al., 2008). No presente trabalho, apesar de o controle não mostrar diferenças significativas em relação as enzimas Tripsina e Colagenase, acreditamos que para utilização em métodos de criopreservação, a separação mecânica seja o método mais recomendado, pois além de minimizar a manipulação dos ovócitos, também evita alteração da permeabilidade das membranas, o que iria influenciar diretamente na toxicidade as soluções crioprotetoras, podendo inclusive torna-las mais sensíveis as mesmas (Lopes et al., 2018).

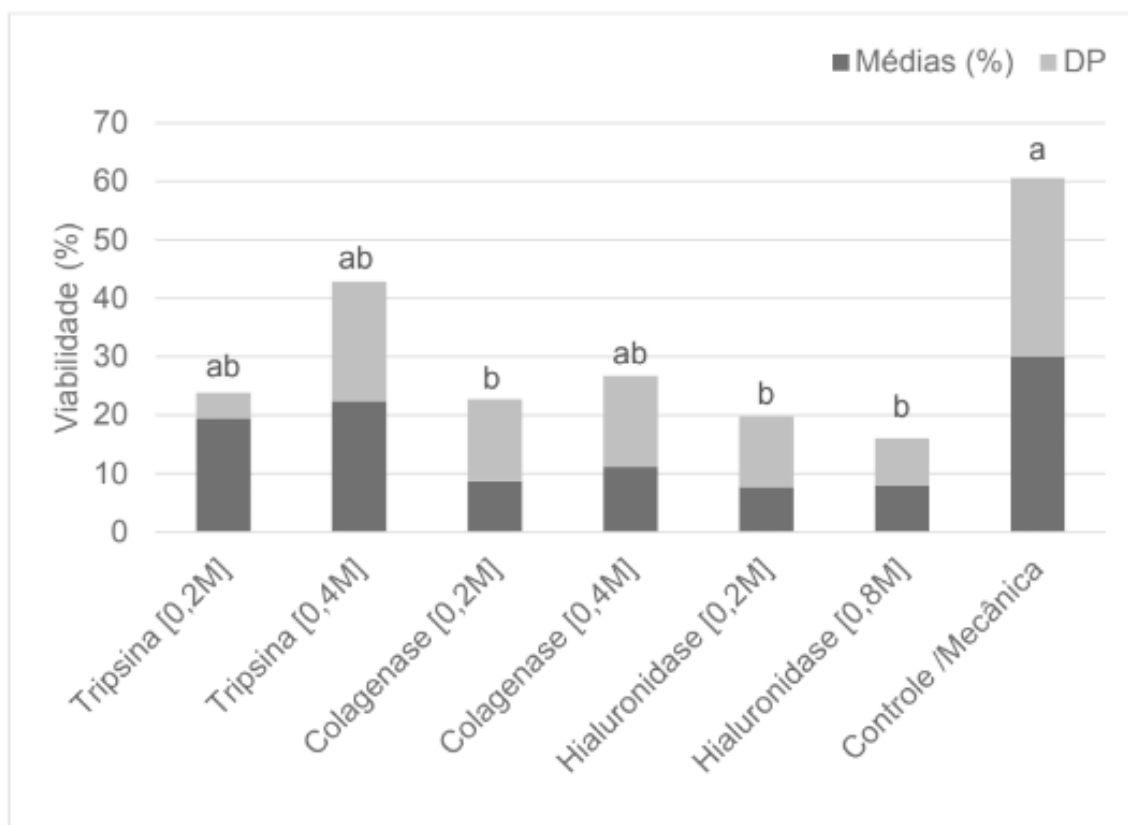


Fig. 3. Viabilidade dos ovócitos por Azul de Tripán (TB). Controle = separação mecânica. *Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,07$). DP = Desvio Padrão.

Em relação aos métodos utilizados para avaliar a viabilidade, não foram observadas grandes diferenças para GVBD e TB, com exceção para a enzima Colagenase, com resultados distintos quando utilizada a coloração por TB. Isto indica que, apesar desta enzima não comprometer a migração da vesícula germinativa, afetou a integridade das membranas mais externas dos oócitos. Plachinta et al. (2004) compararam a eficiência de três diferentes testes de viabilidade empregados em oócitos de *D. rerio*, e encontraram que GVBD e TB são os mais recomendados respectivamente. Com base nos resultados encontrados para oócitos de *S. parahybae*, acreditamos que estes testes de viabilidade são complementares, indicando assim a utilização de ambos, para acurácia dos resultados.

4 | CONCLUSÃO

Concluimos que o método mais eficiente a ser empregado na separação de ovócitos de surubim-do-Paraíba é o mecânico, principalmente para utilização em protocolos de criopreservação, seguido pelo enzimático com tripsina 0,4M por 30 min, em casos em que não preconizem a permeabilidade das membranas.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro, Processo número 2014/21215-8; e a Estação de Hidrologia e Aquicultura da CESP em Paraibuna, SP, por disponibilizar a espécie de peixe, pelo apoio técnico e infraestrutura disponibilizada.

REFERÊNCIAS

- Guan, M.; Rawson, D.M.; Zhang, T. 2008. **Development of a new method for isolating zebrafish oocytes (*Danio rerio*) from tissue masses**. Theriogenology, 69: 269-275. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.09.020>
- Honji, R., Caneppele, D., Pandolfi, M., Lo Nostro, F.L., Moreira, R.G. 2016. **A case of intersex occurrence in *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) (Siluriformes: Pimelodidae) under captivity condition: a cytogenetic and morphological study**. Neotropical Ichthyology, 14(4): e160077. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20160077>
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2009. **Fauna Ameaçada de Extinção, Invertebrados Aquáticos e Peixes**.
- Isayeva, A.; Zhang, T.; Rawson, D.M. 2004. **Studies on chilling sensitivity of zebrafish (*Danio rerio*) oocytes**. Cryobiology, 49(2): 114-122. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2004.05.005>
- Lopes, T.S.; Sanches, E.A.; Caneppele, D.; Romagosa, E. 2018. **Oocytes viability of surubim-do-Paraíba after submission on bath at different cryoprotectants**. Ciência Rural, 48(6): e20170667. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20170667>
- Lopes, T.S.; Sanches, E.A.; Caneppele, D.; Romagosa, E. Submetido para publicação. **Viability of surubim-do-paraíba oocytes submitted to different conservation temperatures**. Boletim do Instituto de Pesca.
- Marques, L.S.; Bos-Mikich, A.; Godoy, L.C.; Silva, L.A., Maschio, D., Zhang, T.; Streit Jr., D.P. 2015. **Viability of zebrafish (*Danio rerio*) ovarian follicles after vitrification in a metal container**. Cryobiology, 71 (3): 367-373. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2015.09.004>
- MMA. 2008. **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Ministério do Meio Ambiente.
- Plachinta, M.; Zhang, T.; Rawson, D.M. 2004. **Studies on cryoprotectant toxicity to zebrafish (*Danio rerio*) oocytes**. CryoLetters, 25 (6): 415-424.
- Streit Jr, D.P.; Godoy, L.C.; Ribeiro, R.P.; Fornari, D.C.; Digmayer, M., Zhang, T. 2014. **Cryopreservation of Embryos and Oocytes of South American Fish Species**. In: **Recent Advances in Cryopreservation**. IntechOpen, C.Y. Chapter 3. <https://doi.org/10.5772/58703>
- Tsai, S.; Rawson, D.M.; Zhang, T. 2009. **Studies on chilling sensitivity of early stage zebrafish (*Danio rerio*) ovarian follicles**. Cryobiology, 58 (3): 279-286. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2009.02.002>
- Zhang, T.; Isayeva, A.; Adams, S.L.; Rawson, D.M. 2005. **Studies on membrane permeability of zebrafish (*Danio rerio*) oocytes in the presence of different cryoprotectants**. Cryobiology, 50 (3): 285-293. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2005.02.007>

SOBRE O ORGANIZADOR

ALAN MARIO ZUFFO - Engenheiro Agrônomo (Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT/2010), Mestre em Agronomia – Produção Vegetal (Universidade Federal do Piauí – UFPI/2013), Doutor em Agronomia – Produção Vegetal (Universidade Federal de Lavras – UFLA/2016). Atualmente, é professor visitante na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS no Campus Chapadão do Sul. Tem experiência na área de Agronomia – Agricultura, com ênfase em fisiologia das plantas cultivadas e manejo da fertilidade do solo, atuando principalmente nas culturas de soja, milho, feijão, arroz, milheto, sorgo, plantas de cobertura e integração lavoura pecuária. E-mail para contato: alan_zuffo@hotmail.com

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-227-2

