http://dx.doi.org/ Artigo Científico
http://www.higieneanimal.ufc.br Medicina Veterinária

Alterações sobre os parâmetros cinéticos do sêmen de curimatã comum (*Prochilodus brevis*) durante o resfriamento

Changes in the Kinetic Parameters of the Semen of the Common Curimatã (Prochilodus brevis) During Cooling.

Kamila Teixeira de Paula[1*], Mariana Sobral Guimarães[2], Fernanda Vitória Almeida Magalhães[3], Yara Silvino Sales[4], Luiz Túlio Teixeira Mota[5], Isaac Lima Cavalcante[6]

Resumo: O curimatã-comum (*Prochilodus brevis*) é um peixe reofílico endêmico do nordeste brasileiro, com grande importância ecológica e socioeconômica. Sua preservação tem sido ameaçada pela pesca predatória e degradação ambiental, tornando a reprodução assistida uma estratégia fundamental para a sua conservação. O resfriamento de sêmen é uma técnica utilizada para prolongar a viabilidade espermática, porém pode ser comprometida pela contaminação microbiana. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência do crescimento bacteriano sobre os parâmetros cinéticos do sêmen de *P. brevis* durante o resfriamento. Foram coletadas amostras de sêmen de quatro machos, armazenadas a 4 °C e analisadas nos tempos de 0, 24, 72 e 120 horas. Os parâmetros cinéticos espermáticos foram avaliados pelo sistema CASA, e a análise microbiológica revelou o crescimento de enterobactérias, sendo *Cronobacter sakazakii* (71,4%) e *Proteus mirabilis* (28,5%) as espécies predominantes. Os resultados indicaram variações na motilidade e velocidade curvilinear (VCL) entre as amostras, sendo que as contaminadas apresentaram pior desempenho ao longo do tempo. A presença bacteriana comprometeu a funcionalidade espermática devido à degradação de nutrientes e efeitos citotóxicos. Conclui-se que a contaminação microbiana influencia negativamente os parâmetros cinéticos do sêmen durante o resfriamento, reforçando a necessidade de rigorosas medidas higiênicas para minimizar esse impacto.

Palavras–chave: Enterobactéria; Espermático; Peixe.

Abstract: The brazilian bocachico (*Prochilodus brevis*) is a rheophilic fish endemic to northeastern Brazil, with significant ecological and socio-economic importance. Its preservation has been threatened by predatory fishing and environmental degradation, making assisted reproduction a fundamental strategy for its conservation. Sperm cooling is a technique used to extend sperm viability; however, it can be compromised by microbial contamination. In this context, the objective of this study was to evaluate the influence of bacterial growth on the kinetic parameters of *P. brevis* sperm during cooling. Semen samples from four males were collected, stored at 4 °C, and analyzed at 0, 24, 72, and 120 hours. Sperm kinetic parameters were assessed using the CASA system, and microbiological analysis revealed the growth of enterobacteria, with *Cronobacter sakazakii* (71.4%) and *Proteus mirabilis* (28.5%) being the predominant species. The results indicated variations in motility and curvilinear velocity (VCL) among the samples, with contaminated samples showing poorer performance over time. Bacterial presence compromised sperm functionality due to nutrient degradation and cytotoxic effects. It is concluded that microbial contamination negatively influences sperm kinetic parameters during cooling, reinforcing the need for strict hygiene measures to minimize this impact.

Keywords: Enterobacteria; Spermatic; Fish.

---

http://dx.doi.org/
Autor para correspondência. E-mail: isadora.r.s.qz@gmail.com
Recebido em 12.03.2025. Aceito em 30.6.2025
*Autora para correspondência: kamila.teixeira@aluno.uece.br

Trabalho apresentado no I Simpósio de Animais Marinhos e Aquáticos (SIPAMAR), promovido pela Liga Acadêmica de Animais Marinhos, Aquáticos e Ambientes Costeiros (LAMAAC), realizado nos dias 10, 11 e 12 de Março de 2025, das 8:00 às 17:00, com o tema: "Águas de Março: Desafios Climáticos e a Saúde da Vida Aquática", no auditrio da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (UECE).

[1*] Informações sobre o trabalho – Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Ceará, campus de Itaperi, Fortaleza-CE, Brasil. email: kamila.teixeira@aluno.uece.br

[2] Graduanda em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Ceará, campus de Itaperi, Fortaleza-CE, Brasil. email: mariana.sobral@aluno.uece.br

[3] Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Ceará, campus de Itaperi-CE, Brasil. email: fernanda.vitoria@aluno.uece.br

[4] Mestre pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV na Universidade Estadual do Ceará, campus Itaperi, Fortaleza-CE, Brasil. email: yara.sales@aluno.uece.br

[5] Mestre pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV na Universidade Estadual do Ceará, campus Itaperi, Fortaleza-CE, Brasil. email: tulio.mota@aluno.uece.br

[6] Graduando em Medicina Veterinária na Universidade Estadual do Ceará, campus de Itaperi,

Fortaleza-CE, Brasil. email: isaac.lima@aluno.uece.br

Introdução

A *Prochilodus brevis* (STEINDACHNER, 1875), popularmente conhecida como curimatã-comum, é um peixe reofílico endêmico do nordeste brasileiro. Esta espécie possui elevada importância ecológica, devido ao seu hábito alimentar detritívoro, se nutrindo de biomassa de níveis menos especializados da cadeia alimentar (TORRES et al., 2022).

Além disso, suas ovas, conhecidas como "caviar do sertão", bem como sua carne são consideradas uma iguaria culinária regional, conferindo a esta espécie uma grande importância socioeconômica (CHELLAPPA et al., 2009). Devido a isso, a pesca predatória associada à destruição do seu habitat, ameaça a preservação desse peixe, atribuindo a criação em cativeiro uma alternativa para a sua conservação (VIVEIROS e GODINHO, 2009).

Diante desses fatos, a reprodução assistida é considerada uma alternativa para aumentar os índices reprodutivos destes animais. Sob essa ótica, o resfriamento de sêmen é uma técnica utilizada na produção de peixes, que consiste em um método de conservação de gametas através da diminuição do metabolismo celular (TORRES *et al.*, 2022).

Embora seja uma técnica amplamente utilizada, a qualidade do sêmen durante o resfriamento pode ser afetada pela contaminação por microrganismos, a exemplo das enterobactérias, que podem comprometer a disponibilidade de nutrientes disponíveis para as células, bem como fatores hormonais e fisiológicos (ISAÚ, 2006). Para prevenir essa ação, diversos agentes antimicrobianos são empregados durante o armazenamento seminal, contudo, a escolha deve ser preconizada de forma seletiva, para evitar a ocorrência de resistência microbiana (MADEIRA *et al.*, 2010).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do crescimento bacteriano sobre parâmetros cinéticos do sêmen de curimatã-comum (*Prochilodus brevis*) durante o resfriamento.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em maio de 2024 e aprovado pelo Comitê de Ética da UECE (protocolo 31032.002012/2024-19). Foram utilizados quatro machos (peso: 140,0 ± 20,8 g; comprimento: 20,00 ± 1,01 cm) provenientes do Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes (LBRP), mantidos em um sistema de recirculação contínua de água e alimentados

com ração comercial.

Os animais foram submetidos à indução hormonal com Ovopel® (18 - 20 µg de aGnRHm e 8 - 10 mg de metoclopramida), e a coleta de sêmen ocorreu 14 horas após a indução (VIEIRA, 2024).

Para a coleta seminal, os peixes foram previamente sedados em uma solução contendo eugenol, álcool e água, com a região ocular protegida e a papila urogenital higienizada. O sêmen foi obtido por meio de massagem abdominal, armazenado a 4 ºC e analisado em quatro tempos experimentais: 0, 24, 72 e 120 horas.

Os parâmetros cinéticos espermáticos foram avaliados por um sistema computadorizado de análise seminal (CASA), utilizando o software Sperm Class Analyser (SCA®; Microptics®, Barcelona, Espanha), sendo analisados aproximadamente 2.000 espermatozoides por captura.

Para a análise microbiológica, as amostras foram semeadas pelo método de esgotamento em placas de Petri contendo ágar sangue (ASA) e ágar MacConkey, conforme descrito por Quinn *et al*. (1994), e incubadas a 37 ºC por 24 horas. Após o período de incubação, sete placas apresentaram crescimento de diferentes colônias bacterianas, que foram selecionadas e submetidas à coloração de Gram (Renylab) e testes bioquímicos para identificação das espécies bacterianas por meio do Sistema Bactray (Bactray 1 – Laborclin).

Resultados e Discussão

A análise comparativa da motilidade entre as amostras positivas e negativas para o crescimento bacteriano revelou que a amostra CA1 obteve uma redução após 0 h, enquanto que a amostra CA4 demonstrou valores superiores em relação às demais no intervalo entre 24 h e 72 h. Entretanto, às 120 h, a amostra CA1 manteve valores elevados quando comparada às amostras positivas (Tabela 1). Processo semelhante foi observado em relação à VCL, contudo, a amostra CA4 apresentou valores superiores apenas às 24 h, quando comparada à CA1, que manteve os melhores resultados frente às amostras que exibiram crescimento bacteriano ao longo de todos os tempos de resfriamento.

A partir da análise microbiológica das amostras foi observada uma baixa diversidade na composição da microbiota, com crescimento restrito de bacilos gram-negativos da família *Enterobacteriaceae*. A espécie *Cronobacter sakazakii* foi identificada em cinco amostras (71,4%), constituindo o maior percentual dos isolados bacterianos observados. Além disso, *Proteus mirabilis* foi detectada em

duas amostras (28,5%), totalizando o perfil bacteriano encontrado.

De acordo com o presente trabalho, observou-se que dentre as amostras analisadas, apenas duas (CA1 e CA3) mantiveram a motilidade preservada até a última hora de resfriamento. Além disso, a VCL é um parâmetro cinético importante para fertilização em peixes (VIVEIROS *et al*., 2010), no entanto, CA2 foi a única amostra que não apresentou valores satisfatórios quanto a VCL às 120 h. Em pesquisas realizadas com *P. lineatus*, que validam os resultados observados nesse estudo, indicaram que a taxa de motilidade do sêmen fresco permaneceu acima de 30% até o quarto dia de resfriamento (VIVEIROS *et al*., 2014).

A qualidade dos parâmetros cinéticos pode ter sido comprometida por fatores relacionados à regulação hormonal, estágio de maturação ou produção de ATP (Ciereszko, 2007; Maria *et al*., 2010), uma vez que os animais utilizados se encontravam no final do período reprodutivo da espécie.

Tabela 1 – Variação da Motilidade (%) e Velocidade Curvilinear (VCL - μm/s) do sêmen de *P. brevis* em função do crescimento bacteriano e do tempo de resfriamento (H)

Tempo de resfriamento (H)	**Identificação das amostras**			
	CA1	CA2	CA3	CA4
Taxa de motilidade (%)				
0	96.7	*79.6	79.1	86.2
24	91.6	*81.9	84.1	94.8
72	89	*79.8	86.6	*92.9
120	77.6	*26.5	*69.3	*59.4
VCL (μm/s)	90.9			
0	72.6	*79.9	71.3	44.3
24	74.6	*52.4	64.6	83
72	54.8	*48	54.9	*67.1
120				

Valores seguidos por asteriscos (*) sobrescritos indicam amostras que apresentaram crescimento bacteriano em cada tempo de resfriamento. Fonte: Elaborado pelo autor.

A presença de enterobactérias corrobora com espécies que predominam em ambientes nos quais a manipulação influencia o nível de contaminação. Assim, o método de coleta por massagem abdominal pode ter favorecido a contaminação das amostras em razão do contato direto do sêmen com o muco presente na pele dos animais (CAVALCANTE *et al*., 2024).

A funcionalidade espermática pode ser comprometida pela ação citotóxica e proteolítica presente em bactérias gram-negativas que, ao acionarem esse mecanismo, consomem nutrientes e utilizam os produtos gerados pela ação enzimática como substrato (Jenkins & Tiersch, 1997) prolongando a atividade, favorecendo o metabolismo dos microrganismos e intensificando os efeitos deletérios sobre os parâmetros espermáticos (RURANGWA *et al*., 2004).

Conclusões

Assim, pode-se observar que houveram variações quanto ao padrão de resposta nos diferentes tempos de resfriamento das amostras, tanto em relação ao VCL como a motilidade. Isso pode ter ocorrido sob a influência da proliferação microbiológica, enfatiza-se, portanto, a adoção de práticas de higiene que previnam essa contaminação, bem como a realização de mais estudos relacionados a características reprodutivas e fisiológicas da espécie.

Literatura citada

BUCAK MN, KESKIN N, TASPINAR M, ÇOYAN K, BAŞPINAR N, CENARIU MC, BILGILI A, ÖZTÜRK C, KURŞUNLU AN. Raffinose and hypotaurine improve the post-thawed merino ram sperm parameters. **Cryobiology.** v.67, n.1, p.34-9, 2013. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2013.04.007> Acesso em: 09 de fev. 2025.

CAVALCANTE, I. L.; MOTA, L. T. T.; DE PAULA, K. T.; SILVA, I. N. G.; SALMITO-VANDERLEY, C. S. B. Comparativo do perfil microbiológico de bactérias aeróbias da pele de *Prochilodus brevis*. In: XXVII SEMINÁRIO NORDESTINO DE PECUÁRIA - PECNORDESTE, 27., 2024, Fortaleza. Mostra de Trabalhos Científicos [...] Fortaleza.

CHELLAPPA S; BUENO R. M. X; CHELLAPPA T; CHELLAPPA N. T; ALMEIDA; VAL VMF. Reproductive seasonality of the fish fauna and limnoecology of semi-arid Brazilian reservoirs. **Limnologica** v.39, n.4, p.:325–329, 2009.

CIERESZKO, A. Chemical composition of seminal plasma and its physiological relationship with sperm motility, fertilizing capacity and cryopreservation success in fish. In: ALAVI, S. M. H.; COSSON, J.; COWARD, K.; RAFIEE, G. (ed.). **Fish Spermatology**. Oxford: Alpha Science International Ltd, p. 484, 2007.

ISAÚ, Z.A. Sucesso do resfriamento e congelamento de semen de pirapitinga Brycon nattereri.Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinaria e Zootecnia, v. 59, p. 1509-1515, 2007.

JENKINS, J. A.; TIERSCH, T. R. A preliminary bacteriological study of refrigerated channel catfish sperm. **Journal World Aquaculture Society, Baton Rouge**, v. 28, n. 3, p. 282-288, 1997.

MADEIRA, E. M.; GOULARTE, K. L.; GASTAL, G. A. D.; FERNANDES, C. P. H; BIANCHI, I. O antibiótico utilizado no diluente para criopreservação de sêmen ovino pode afetar a qualidade espermática? XII ENPOS, II Mostra Científica, 2010.

MARIA, A.N. **Diluidores e crioprotetores no resfriamento e congelamento do sêmen de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*).** 2005. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2005.

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

TORRES, T; ALMEIDA-MONTEIRO, P; NASCIMENTO, R. CÂNDIDO-SOBRINHO, S.A. SOUSA, C.T.N. FERREIRA, Y.M. PAULA, K.T. SALMITO-VANDERLEY, C.S.B. Effects of taurine, cysteine and melatonin as antioxidant supplements to the freezing medium of *Prochilodus brevis* sperm. **Cryobiology**, v. 114, p. 104858, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011224024000130>. Acesso em: 09 fev. 2025.

TORRES, T; ALMEIDA-MONTEIRO, P; NASCIMENTO, R. PEREIRA, V.A. FERREIRA Y.M. LOBATO, JS. Sperm cryopreservation of *Prochilodus brevis* using different concentrations of non-permeable cryoprotectants. **Animal Reproduction**, v. 19, p. e20210083, 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ar/a/pB7CgmnqJSkL6GgdBBbt6vQ/>. Acesso em: 09 fev. 2025.

VIEIRA, C. T. N. S.; SALES, Y. S.; LOBATO, J. S.; APOLIANO, M. L. S.; FERREIRA, Y. M.; CÂNDIDO-SOBRINHO, S. A.; PEREIRA, V. A.; SALMITO-VANDERLEY, C. S. B. Evaluation of different hormone inducers on the reproduction of *Prochilodus brevis* males. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, CE, v. 55, 2024.

VIVEIROS A. T. M, GODINHO H. P. Sperm quality and cryopreservation of Brazilian freshwater fish species: a review. **Fish Physiol Biochem**. v.35, n.1, p. 137-50. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10695-008-9240-3> Acesso em: 09 fev. 2025.

VIVEIROS, A. T. M.; TAFFAREL, T. R.; LEAL, MARCELO C. L. Osmolality and composition of the extender during the cold storage of Prochilodus lineatus (Characiformes: Prochilodontidae) sperm. **Neotropical Ichthyology**, v. 12, n. 3, p. 643-648, 2014.