

**CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS COMO ALTERNATIVA
PARA CONSERVAÇÃO DE GERMOPLASMA DE PREÁS-DA-CAATINGA (*GALEA SPIXII*)**
**Cryopreservation of epididimal spermatozoa as an alternative for conservation of
germoplasm of caatinga caviar (*Galea spixii*)**

Herlon Victor Rodrigues Silva^{1*}, Pedro Augusto Pinheiro Brito², Lilian Leal Dantas², Euziele Oliveira de Santana², Romário Parente dos Santos², Andréia Maria da Silva², Carlos Eduardo Bezerra Moura², Alexandre Rodrigues Silva²

¹Universidade Estadual do Ceará, Tauá, Ceará.

²Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Rio Grande do Norte.

*Email do autor correspondente: herlon.silva@uece.br

Introdução: Os preás da Caatinga (*Galea spixii*) são importantes engenheiros ambientais cuja reprodução natural tem sido impactada pela fragmentação do seu habitat (1). Assim, a preservação de espermatozoides epididimários surge como opção para sua conservação, principalmente em indivíduos que venham subitamente a óbito (2). O objetivo foi comparar o efeito de dois métodos sobre a preservação de espermatozoides e do tecido epididimário de preás da Caatinga.

Material e Métodos: Foram utilizados epidídimos de 5 animais adultos do criatório científico da UFERSA, cuja eutanásia foi autorizada pelo CEUA/Ufersa (nº 33/2024) e SISBIO (nº 6618-5). As caudas epididimárias foram destinadas a dois grupos: no primeiro, espermatozoides foram coletados por lavagem retrógrada e criopreservados isoladamente em diluente Tris com 10% gema e 12% glicerol, armazenados em nitrogênio (3), posteriormente reaquecidos e analisados quanto a motilidade e morfologia, sob microscopia de luz; ademais, fragmentos do tecido fresco foram fixados em Bouin (controle). No segundo, procedeu-se vitrificação da cauda epididimária por completo em solução de equilíbrio, seguida de exposição a solução vitrificante com 2,5 mL de Meio Eagle Modificado de Dulbecco, 0,25M de sacarose, 10% de soro fetal bovino e 40% de etilenoglicol por 2 minutos. As amostras foram acondicionadas em dispositivos metálicos, armazenadas em nitrogênio, reaquecidas após uma semana, removendo-se os crioprotetores em soluções de sacarose (5M, 2,5M, e 0M). Procedeu-se recuperação de espermatozoides por flutuação seguida de análise de motilidade e morfologia, e fixação de tecidos da cauda epididimária em Bouin. Os fragmentos fixados foram processados para histologia (4), corados com hematoxilina-eosina, e avaliados sob microscopia quanto a ruptura do epitélio, retração da membrana basal e conteúdo luminal, em escores de 3 a 1 (Tabela 1). Os resultados foram expressos em média $\pm$ erro-padrão e comparados pelo teste T ($P < 0,05$).

Resultados: Quanto à motilidade espermática, houve diferença significativa ($P < 0,05$), entre os grupos de espermatozoides congelados isoladamente ($33,2 \pm 4,5\%$), e daqueles incluídos na cauda ($0,20 \pm 0,20\%$); ao contrário para a morfologia espermática, os grupos foram similares ($P > 0,05$), com valores de $85,8 \pm 3,4\%$ e $81,8 \pm 4,5\%$, respectivamente. Na análise do tecido epididimário, o controle fresco apresentou escores de $2,93 \pm 0,0$ para integridade do epitélio, $2,89 \pm 0,0$ para a membrana basal, e $2,94 \pm 0,0$ para conteúdo luminal coeso (Figura 1AB). No grupo em que os espermatozoides foram criopreservados incluídos na cauda epididimária, o tecido sofreu significativa queda de qualidade ($P < 0,05$), apresentando escores de $1,63 \pm 0,0$ na integridade epitelial, $1,77 \pm 0,0$ para ruptura de membrana, e $1,47 \pm 0,0$ na coesão do conteúdo luminal. De fato, o tecido criopreservado apresentou epitélio com injúrias, como rupturas do epitélio, retração da membrana basal e conteúdo luminal não coeso (Figura 1CD).

Discussão e Conclusão: Em conclusão, a criopreservação de espermatozoides incluídos na cauda epididimária leva a perda significativa na qualidade tecidual e espermática, sendo então sugestivo

o uso da criopreservação de espermatozoides epididimários isolados como ferramenta para formação de biobancos de germoplasma de preás da Caatinga, com possibilidade de extrapolação da técnica para outros roedores cavídeos.

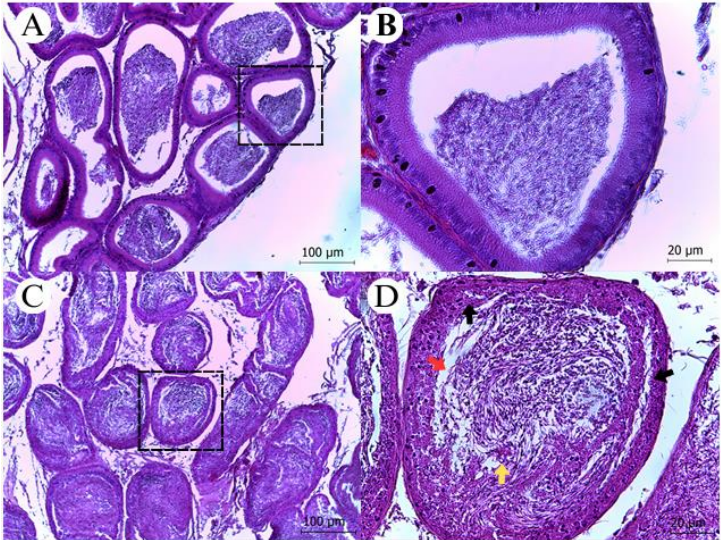
Referências: 1) Catzeffli F, et al. Galea spixii the IUCN Red List of Threatened Species 2016:e.T8825A22189453. 2016. 2) Lima SLG, et al. Epididymal tail solid-surface vitrification as an effective method for domestic cat sperm cryobanking. Zygote, v. 29, n. 6, p. 452-458. 2021. 3) Moreira SSJ, et al. Cryopreservation of Spix's yellow-toothed cavy epididymal sperm using Tris- and coconut water-based extenders supplemented with egg yolk or Aloe vera. Cryobiology. v. 99, p. 40-45. 2021. 4) Tolosa EMC, et al. manual de técnicas para histologia normal e patológica. 2 ed. Barueri, Manole, p. 331, 2003

Palavras-chave: Biobancos, roedores, vida selvagem
Keywords: Biobank, rodents, wildlife

Autorizações: CEUA nº 33/2024 / SISBio nº 6618-5

Agências Financiadoras: CNPq, Capes

Figura 1: Micrografias representativas usadas para avaliação das injúrias no tecido da cauda do epidídimo de preás (*Galea spixii*) antes e após o processo de criopreservação



(A) Tecido da cauda epididimária fresco, (B) Detalhamento da figura 1A, onde se observa um ducto epididimário íntegro, (C) Tecido da cauda epididimária criopreservada, (D) Detalhamento da figura 1C, onde se observa um ducto epididimário com injúrias causadas pela criopreservação. A seta preta indica ruptura do epitélio da membrana basal. A seta amarela indica desprendimento de fragmentos do epitélio. A seta vermelha indica massa não coesa de espermatozoides.

Tabela 1: Escala de injúria na cauda do epidídimo

Parâmetros avaliados	Pontuações		
	#3	#2	#1
Ruptura do epitélio epididimário	Sem ruptura	Parcialmente rompido (<50%)	Amplamente rompido (>50%) com áreas de perda de epitélio
Retração da membrana basal	Sem retração	Retração parcial (<50%)	Retração acentuada (>50%)
Conteúdo luminal	Massa coesa de espermatozoide	Massa irregular de espermatozoides	Conteúdo luminal não coeso

