**TOLERÂNCIA DE EMBRIÔES DO LINGUADO (*Paralichthys orbignyanus)* A DIFERENTES TEMPERATURAS E ENSAIOS DE RESFRIAMENTO**

**ALVES, Juliana do Prado; CARDOSO, Tainã Figueiredo; SILVA, Estela Fernandes; OKAMOTO, Marcelo Hideo; CORCINI, Carine Dahl; SAMPAIO, Luís André; ROBALDO, Ricardo Berteaux; VARELA JR, Antonio Sergio**

**ju\_alvesrg@hotmail.com**

**Evento: XV Encontro de Pós-Graduação**

**Área do conhecimento: Reprodução animal**

**Palavras-chave: cauda, sensibilidade, larvas.**

1 INTRODUÇÃO

O linguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes 1839) possui grande tolerância a variações ambientais e à reprodução em cativeiro. Sendo, atualmente, considerado como uma das espécies de maior potencial para piscicultura marinha e estuarina do sul do Brasil (BIANCHINI et al; 2005). Para o incremento da produção na piscicultura, biotecnologias como a criopreservação de gametas e embriões são ferramentas importantes no melhoramento genético, transporte e comercialização de descendentes. Contudo, os embriões possuem grande sensibilidade a baixas temperaturas e ao choque osmótico, fato que limita a aplicação da tecnologia de congelamento (DING et tal; 2007). Assim este trabalho teve por objetivo analisar a sensibilidade ao resfriamento para embriões de *P. orbidnyanus,* em estágio de cauda – sem o uso de crioprotetores, através da avaliação de diferentes temperaturas mínimas e velocidades de resfriamento sob os paramentos de morfologia e eclosão.

2 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Os ovos embrionados de *P. orbignyanus* foram obtidos a partir de reprodutores capturados na Praia do Cassino, Rio Grande, Brasil – e transferidos para o laboratório de Piscicultura da Estação Marinha de Aquicultura (EMA/FURG). A desova foi induzida através de extrato de hipófise de carpa (3mg/kg de peso corpóreo). E a extrusão dos gametas foi realizada por massagem abdominal, seguida de fertilização *in vitro* em água do mar filtrada a 20 ºC. Os embriões resultantes da fertilização artificial foram mantidos em incubadora DBO a 23 ºC com água do mar, sob aeração, até atingirem o estágio de inicio de formação da cauda. O acompanhamento dos embriões até o estagio desejado foi feito através de estereomicroscópio, conforme Bianchini *et al.* (2005).

Os embriões foram resfriados de 23 ºC até as temperaturas mínimas de resfriamento de 15, 10 e 5ºC sob três curvas de resfriamento: rápido (de 1 °C a cada 2,5 min), moderado (de 1 °C a cada 5 min) e lento (de 1 °C a cada 7,5 min), sendo ao final reaquecido até 23 °C. Por fim foram analisados quanto ao aspecto morfológico e eclosão. Foi feita análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis para a comparação entre médias.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

As taxas de eclosão e morfologia normal das larvas nas curvas rápidas e moderadas, não diferiram até a temperatura de 5 ºC. Contudo, na curva lenta, todos os tratamentos resfriados diferiram do controle (p<0,05), e apenas o resfriamento a 5°C diferiu dos demais grupos para a taxa de eclosão das larvas (tabela 1).

Tabela 1 - Sensibilidade dos embriões de P. *orbignyanus* em estágio de cauda ao resfriamento

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Rápida | | Média | | Lenta | |
| Temperatura | Eclosão | Morfologia | Eclosão | Morfologia | Eclosão | Morfologia |
| 23-23°C | 86.4±12.9Aa | 82.0±12.0Aa | 83.2±9.4Aa | 85.0±3.5Aa | 84.4±6.0Aa | 78.0±10.3Aa |
| 23-15°C | 84.6±9.3Aa | 74.0±8.9Aa | 74.8±11.8Aa | 65.0±7.0ABab | 70.2±9.7Aab | 52.0±5.4Bab |
| 23-10°C | 82.0±11.1Aa | 72.0±11.5Aa | 73.2±12.9Aa | 61.0±4.1ABab | 62.2±9.8Aab | 39.0±9.6Bb |
| 23-05°C | 76.8±11.7Aa | 68.0±13.5Aa | 69.8±12.4ABa | 52.0±9.0ABb | 44.2±4.8Bb | 26.0±16.8Bb |

Letras maiúsculas diferentes, na mesma linha para a mesma avaliação, diferem estatisticamente.

Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna para a mesma avaliação, diferem estatisticamente.

Fica evidente a possibilidade de diluição em crioprotetores de congelamento, por um período mais curto e de menor latência e metabolismo celular (a 5 ºC), possibilitando a diminuição da toxidez ao DNA destes (VAJTA et al.; 1998).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossas avaliações demonstram que os embriões de *P. orbignyanus* podem ser submetidos a um resfriamento de até 5ºC, em curvas de resfriamento rápido ou médio, sem perdas nas taxas de eclosão e de normalidade morfologia das larvas.

REFERÊNCIAS

BIANCHINI, A.; ROBALTO, R. B.; SAMPAIO, L. A. N. Cultivo do Linguado. Cap. 20. In: Baldisserotto, B.; Gomes, L. C. **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. Santa Maria, Ed. UFSM, 2005. p. 445-470.

DING, F. H.; XIAO, Z. Z.; LI, J. Preliminar studies on the vitrification of red sea bream (*pagrus major*) embryos. **Theriogenology**, v. 68, p. 702-708, 2007.

VAJTA, G.; HOLM, P.; KUWAYAMA, M. et al. Open pulled straw (OPS) vitrification: A new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. **Molecular Reproduction and Development**, v. 51, n.1, p. 53-58. 1998.