



XXX Seminário de

INICIAÇÃO CIENTÍFICA

DA UFERSA

09 a 12 de dezembro de 2024

Núcleo de Avaliação: Núcleo I

Área temática: Ciências Agrárias

Área do Conhecimento: Reprodução Animal - Ginecologia e Andrologia Animal

AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DO DNA DE CÉLULAS TESTICULARES DE CATETOS (*Pecari tajacu*) CULTIVADAS IN VITRO UTILIZANDO O MARCADOR LARANJA DE ACRIDINA

Joana Letícia Cottin de Albuquerque, Andréia Maria da Silva, Ana Glória Pereira, Gabriel Santos Costa Bezerra, Alexandre Rodrigues Silva

O *Pecari tajacu* é uma espécie das Américas presente em praticamente todos os biomas, porém está ameaçada na Mata Atlântica e Caatinga. Nesse sentido, faz-se necessário o desenvolvimento de técnicas reprodutivas e bancos de germoplasma para garantir a preservação do seu material genético. Desta forma, esse estudo objetivou estabelecer um protocolo de avaliação da integridade do DNA de células testiculares utilizando o marcador Laranja de Acridina (LA), durante o desenvolvimento in vitro. Cinco pares de testículos de machos pré-púberes provenientes do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) foram coletados, fragmentados e separados em dois grupos, o fresco (controle) e o cultivado. O cultivado foi submetido a um cultivo organotípico durante 56 dias com retiradas a cada 14 dias. Para analisar a integridade do DNA, as células foram isoladas por digestão enzimática com colagenase IV à 37°C, incubadas com LA e brometo de etídio. As amostras foram avaliadas sob microscópio de epifluorescência e classificadas como viáveis (V) quando a célula apresentava núcleo verde claro uniforme, apoptótica precoce (AP) com núcleo verde não uniforme, apoptótica tardia (AT) com núcleo laranja brilhante não uniforme e necróticas (N) com núcleo laranja uniforme. Os dados foram expressos em média e erro padrão e cada classificação (V, AP, AT e N) foi comparada ao longo do tempo (fresco, 14, 28, 42 e 56 dias) por ANOVA seguido do teste Tukey ($P < 0,05$). No grupo fresco, foram observadas em média $69,4 \pm 2,8\%$ de V, $11,2 \pm 2,8\%$ de AP, $10,80 \pm 3,1\%$ de AT, e $8,6 \pm 3,5\%$ de N. Já para as amostras submetidas ao cultivo por 14 dias, $24,00 \pm 7,1\%$ V, com $8,8 \pm 3,8\%$ AP, $23,40 \pm 3,8\%$ AT, e $43,8 \pm 10\%$ N. Aos 28 dias as médias apresentadas foram de $25,6 \pm 6,8\%$ V, $5,4 \pm 2,1\%$ AP, $10,2 \pm 3,9\%$ AT, e $58,6 \pm 11,8\%$ N. Após 42 dias de cultivo, $26,20 \pm 6,8\%$ V, $4,4 \pm 1,1\%$ AP, $25,4 \pm 9,1\%$ AT, e $43,8 \pm 13,6\%$ N. Por fim, aos 56 dias, foram observadas $17,5 \pm 1,5\%$ V, $3,5 \pm 0,5\%$ AP, $2,5 \pm 0,5\%$ AT e $76,5 \pm 1,5\%$ N. Assim, verificou-se que houve uma diminuição na qualidade celular geral para todos os parâmetros (V, AP, AT e N) em relação ao controle fresco ($P < 0,05$), exceto para AT aos 28 dias. Durante o tempo de cultivo houve grande variação nos parâmetros avaliados V (24% – 17,5%), AP (8,8% – 3,5%), AT (23,4% – 2,5%) e N (43,8% – 76,5%), no entanto, apenas aos 56 dias os valores de AT e N diferiram quando comparados

aos dias anteriores de cultivo ($P < 0,05$), pois durante a cultura, processos biológicos como encurtamento dos telômeros e senescência celular podem ser causados pelas condições do cultivo in vitro. Adicionalmente, é válido ressaltar que o LA possibilitou a visualização de maneira adequada dos danos ao DNA das células testiculares, além de ser um método simples, rápido e de baixo custo. Portanto, conclui-se que a utilização do marcador Laranja de Acridina se configura em um método eficiente para a avaliação de integridade de DNA em células testiculares de cateto.

Palavras-chave: Tayassuídeos, DNA, Microscopia de Epifluorescência

Agência financiadora: PIVIC

Campus: Mossoró
