

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS  
**INSTITUTO DE PESCA**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

*Steindachneridion parahybae* (STEINDACHNER, 1876) (SILURIFORMES: PIMELODIDAE):  
PRODUÇÃO ESPERMÁTICA AO LONGO DE UM CICLO REPRODUTIVO

**Danilo Caneppele**

**Orientadora: Elizabeth Romagosa**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca, APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

**São Paulo**  
**Setembro – 2011**

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS  
**INSTITUTO DE PESCA**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

*Steindachneridion parahybae* (STEINDACHNER, 1876) (SILURIFORMES: PIMELODIDAE):  
PRODUÇÃO ESPERMÁTICA AO LONGO DE UM CICLO REPRODUTIVO

**Danilo Caneppele**

**Orientadora: Elizabeth Romagosa**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca, APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

**São Paulo**  
**Setembro – 2011**

Dedico este trabalho:

Aos meus pais **Lori Vicente Caneppele** (*in memoriam*) e **Julieta Guariglia Caneppele**, responsáveis pela formação do meu caráter.

A minha esposa **Edlene**, que me completa com seu amor.

Aos meus filhos **Pedro e Vítor**, que são a razão da minha vida.

**"Não existem ventos favoráveis para aqueles que não sabem o seu destino"**

## **Agradecimentos**

Ao Deus Pai, Mestre de toda a natureza que tentamos humildemente entender.

À Profa. Dra. Elizabeth Romagosa, pela orientação, conhecimento, carinho, apoio e paciência durante esta jornada.

Ao mentor e amigo Eduardo Antônio Sanches, pela "coorientação informal", análises de lâminas, estatística e principalmente pelo companheirismo.

À Companhia Energética de São Paulo - CESP, por permitir a realização deste estudo.

A toda equipe da Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna, Benedito, Milton, Edmur, Vicente, Ielzo, Diego, César, José Adriano e Zequinha, que com sabedoria e inteligência suportaram meu mau humor e "ausência" durante este período.

À Equipe do Laboratório de Tecnologia de Sêmen - Universidade Federal de Lavras - UFLA, MG, Profa. Ana Viveiros, Laura, Ziara, Ariane, Thiciana, Isabel, Tati e Rafael, pela realização das análises de pH e osmolaridade do plasma seminal, além do incentivo e amizade.

A todos aqueles que de alguma forma me inspiraram na retomada dos estudos, João Henrique Pinheiro Dias, Alexandre Hilsdorf, Renata Moreira, Renato Honji, dentre tantos outros parceiros científicos.

Por fim, a todos os meus amigos que sabem que merecem o meu Muito Obrigado!

Sumário	
Resumo .....	i
Abstract.....	ii
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. OBJETIVOS .....	4
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	5
3.1 A bacia do Rio Paraíba do Sul e sua ictiofauna.....	5
3.2 A espécie escolhida <i>Steindachneridion parahybae</i> .....	7
3.3 As ações da CESP na bacia.....	9
3.4 Propagação artificial .....	12
3.5 Qualidade de gametas masculinos .....	12
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16
5. APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS .....	23
CAPÍTULO 1 .....	24
Resumo .....	25
Abstract .....	26
Introdução .....	26
Materiais e Métodos .....	28
Resultados e Discussão .....	31
Conclusões .....	39
Agradecimentos .....	39
Referências .....	39
CAPÍTULO 2 .....	43
Resumo .....	44
Abstract .....	45
Introdução .....	45
Materiais e Métodos .....	47
Resultados e Discussão .....	50
Conclusões .....	56
Agradecimentos .....	56
Referências .....	56
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60



## 1 **Resumo**

2  
3 O *Steindachneridion parahybae*, comumente denominado surubim do Paraíba, pode ser considerada como um dos mais emblemáticos exemplos da situação de ameaça em que se encontra a ictiofauna brasileira. Endêmico da bacia do rio Paraíba do Sul foi importante para a pesca no passado, atualmente está classificado como regionalmente extinto no Estado de São Paulo e criticamente ameaçado nos demais estados banhados pela bacia. A necessidade urgente de ampliação de conhecimentos sobre a espécie, para o desenvolvimento de programas de reprodução em cativeiro e repovoamento, demanda o desenvolvimento de estudos. Neste sentido, objetivou-se avaliar a produção espermiática da espécie ao longo de um ciclo reprodutivo, verificando o efeito da indução hormonal sobre os parâmetros seminais e possíveis correlações entre eles. Entre os meses de outubro de 2009 a abril de 2010 foram avaliados parâmetros quali-quantitativos de 156 amostras de sêmen fresco, coletadas de 26 exemplares, divididos em dois tratamentos (não induzidos e induzidos). Os exemplares utilizados foram produzidos em dezembro de 2003 a partir de reprodutores selvagens. Os parâmetros espermiáticos avaliados foram: volume relativo; taxa de motilidade; tempo de motilidade; concentração espermiática; osmolaridade do plasma seminal; pH do plasma seminal e alterações morfológicas, divididas em uma ou mais de uma ocorrência e classificadas em graves e leves. Os resultados obtidos submetidos à análise de variância ao nível de 5% de significância indicaram variação temporal na produção espermiática da espécie, porém não foram observados efeitos significativos entre os tratamentos utilizados, mostrando não ser necessário o processo de indução hormonal para a obtenção de material fecundante proveniente de machos da espécie. Através da análise dos coeficientes de correlação de Pearson foi evidenciada dentre outras, uma forte correlação entre a taxa e o tempo de motilidade influenciadas pelo número e a gravidade das alterações morfológicas. A osmolaridade do plasma seminal se correlacionou à taxa de motilidade e a presença de alterações morfológicas, já o pH influenciou o tempo de motilidade. Também ficou evidente a relação inversa entre o volume relativo de sêmen e a concentração espermiática e que o percentual de espermatozoides normais proporciona um significativo aumento nas taxas de motilidade.

35  
36 **Palavras Chave:** Sêmen, surubim do Paraíba, variação temporal, correlações

37

38 **Abstract**

39

40 *Steindachneridion parahybae*, commonly called surubim do Paraíba, may be  
41 regarded as one of the most representative examples of the endangered situation  
42 of the Brazilian fish fauna today. Endemic to the Paraíba do Sul river basin, this  
43 species used to be important to fishing in the past. Nowadays, it is classified as  
44 regionally extinct in the state of São Paulo and critically endangered in the other  
45 states bordering the basin. There is an urgent need for more knowledge about this  
46 species for the development of programs of reproduction in captivity and  
47 repopulation, so more studies are required. The objective of this study was to  
48 assess the sperm production of this species over one reproductive cycle, verifying  
49 the effect of the hormonal induction on the seminal parameters and possible  
50 correlations between them. The quali-quantitative parameters of 156 samples of  
51 fresh semen collected from 26 units divided into two treatments (non-induced  
52 and induced) were evaluated between October 2009 and April 2010. The units  
53 used had been produced in December 2003 from wild broodfish. The sperm  
54 parameters assessed were: relative volume; motility rate; motility time; sperm  
55 concentration; osmolarity of the seminal plasma; pH of the seminal plasma and  
56 morphological changes, divided into one or more occurrences and classified into  
57 severe and mild. The results obtained were submitted to analysis of variance to  
58 the level of 5% significance and indicated temporal variation in the sperm  
59 production of the species. However, significant effects were not observed between  
60 the treatments, showing that the process of hormonal induction was not necessary  
61 for the production of fertile material obtained from males of this species. By means  
62 of the analysis of the Pearson correlation coefficient it was possible to show,  
63 among others, a strong correlation between motility rate and motility time  
64 influenced by the number and severity of the morphological changes. The  
65 osmolarity of the seminal plasma correlated with the motility rate and the presence  
66 of morphological changes, and the pH influenced the motility time. The inverse  
67 relationship between the relative volume of semen and the sperm concentration  
68 was also evident, as well as the fact that the percentage of normal spermatozoa  
69 provided a significant increase in the motility rate.

70

71 **Key Words:** Semen, surubim do Paraíba, temporal variation, correlations

72



## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Estima-se que existam 55.000 espécies de vertebrados distribuídas pelo mundo das quais cerca de 28.000 mil são peixes, sendo que mais de 10 mil vivem em águas doces (Nelson, 2006). Deste total, de acordo com Bockup et al. (2007) o Brasil abriga 2587 espécies, possuindo uma das mais ricas biodiversidades de peixes de água doce do mundo, sendo importantes não só pela quantidade de espécies, mas também pela sua relevância como fonte de proteína para a humanidade. Entretanto, a perda da biodiversidade em ambientes aquáticos configura hoje como um dos principais problemas a serem enfrentados, sendo que dentre os fatores mais relevantes para o agravamento desta situação estão as diversas formas de destruição de habitats, que ocorrem hoje, principalmente nos países em desenvolvimento (Caneppele, 2007).

Carolsfeld et al. (2003) consideraram dentre as principais causas da diminuição dos estoques naturais de peixes a construção de barragens hidrelétricas, a urbanização, as atividades agrícolas, a sobrepesca, o desrespeito aos períodos de defeso e a introdução de espécies exóticas. Nas regiões sudeste e sul do Brasil populações de algumas espécies de peixes estão em acentuado declínio resultante das modificações ecológicas provocadas pelo crescimento demográfico. Somando-se aos impactos já destacados acima temos ainda a destruição das lagoas marginais e o desenvolvimento industrial, que provocam a queda da produtividade e a inadequação do ambiente (Godinho et al., 1984; Barbieri et al, 2004).

Com a perda da biodiversidade, estima-se que, em poucas décadas, diversas espécies poderão desaparecer por completo, sobretudo as endêmicas, isto é, aquelas que só existem em determinados ambientes aos quais estão bem adaptados (SMA, 2009).

Neste sentido, principalmente para suprir a demanda crescente por proteína, a aquicultura encontra-se em plena expansão (Scorvo Filho, 2008), enquanto que ao mesmo tempo, as populações de peixes provenientes da natureza estão sendo devastadas, considerando-se como “urgente” a

35 necessidade de investigação sobre a reposição destes estoques (Romagosa,  
36 2008).

37

38 A piscicultura está estreitamente relacionada com a capacidade de  
39 perpetuação das espécies, produzindo larvas para criação, repovoamento e a  
40 formação de plantéis de reprodutores (Godinho et al., 1984; Viveiros e Godinho  
41 2009). Contudo para a grande maioria das espécies nativas de água doce, os  
42 processos de produção massiva de alevinos, ainda não são dominados, tornando-  
43 se imperativo o desenvolvimento de tecnologia para a produção em grande escala  
44 de peixes (Romagosa, 2006; Weingartner et al, 2008).

45

46 Ainda hoje de um modo geral, a reprodução de peixes nativos  
47 brasileiros se baseia na fertilização artificial pelo método a “seco”, que consiste na  
48 liberação “forçada” e mistura dos gametas até a homogeneização completa, para  
49 posterior adição de água promovendo a ativação dos espermatozóides e  
50 fertilização dos ovócitos (Ihering & Azevedo 1936). Entretanto, a eficiência desta  
51 técnica é limitada, pois pouco ainda se sabe sobre as características requeridas  
52 dos gametas, principalmente os masculinos. No que se refere às taxas de  
53 fertilização, a definição da melhor relação ovos/espermatozóides, ainda é  
54 incipiente (Bombardelli et al., 2006; Shimoda et al., 2007; Sanches et al., 2009;  
55 Weingartner, 2010).

56

57 Dentre as terapias hormonais existentes para promover a reprodução  
58 artificial de peixes em cativeiro a mais amplamente utilizada é a hipofisação,  
59 realizada através da aplicação de extrato de pituitária de carpa (EPC) (Romagosa,  
60 2008). Ainda segundo a autora, a eficiência deste método pode variar entre as  
61 diferentes dosagens, sendo que comumente são utilizadas duas doses 0,5 e 5,0  
62 mg Kg<sup>-1</sup> aplicadas em intervalos de 12 horas, porém, ainda existe a necessidade  
63 de se aperfeiçoar os manejos hormonais, sua aplicação e quantidade,  
64 dependendo principalmente do modo de reprodução que determinada espécie  
65 apresenta.

66

67 Na maioria das estações de piscicultura, sejam elas, comerciais ou  
68 voltadas para a conservação, os reprodutores são utilizados rotineiramente

69 apenas uma vez por ciclo reprodutivo, estimulados através dos agentes  
70 hormonais, e posteriormente estocados em tanques de quarentena até o início de  
71 um novo ciclo. Geralmente estes processos são executados sem a avaliação  
72 sistemática dos efeitos da indução sobre a produção dos gametas. Para  
73 [Kavamoto et al. \(1997\)](#) que estudaram a produção espermática do *Prochilodus*  
74 *scrofa* (*Prochilodus lineatus*), a utilização racional de machos mantidos em  
75 cativeiro e destinados à reprodução induzida é imprescindível, sendo de extrema  
76 importância o conhecimento da produção do material fecundante desses  
77 exemplares.

78

79 De uma maneira geral, a contínua dependência de machos  
80 reprodutores selvagens tem sido o gargalo da produção comercial ([Zaniboni-Filho](#)  
81 [& Nuñez, 2004](#)). Os estoques de machos, quando mantidos em confinamento,  
82 contribuem de forma irregular, quanto ao volume do sêmen, concentração e  
83 motilidade dos espermatozóides, com perdas freqüentes de alelos ([Romagosa,](#)  
84 [2008](#)).

85

86 A reprodução artificial com sêmen fresco ou congelado revela  
87 possibilidades de limitar o estoque de machos na piscicultura, propiciando uma  
88 exploração mais racional de reprodutores geneticamente selecionados e uma  
89 redução nos custos de produção ([Fogli da Silveira et al., 1988](#)).

90

91 [Lahnsteiner \(2000\)](#) ressalta a importância de se conhecer as  
92 características morfológicas e funcionais dos espermatozóides para melhorar a  
93 produção de qualquer espécie de peixe quando mantidos em cativeiro.

94

95 Para se estabelecer o sucesso da piscicultura nacional e considerá-la  
96 uma atividade eficiente, é preciso controlar os passos da reprodução dos peixes  
97 nativos, obtendo-se “sementes” de boa qualidade (ovos e esperma), para a  
98 produção sistemática de juvenis de qualidade provenientes de matrizes viáveis  
99 mantidas em confinamento ([Zaniboni-Filho e Nuñez, 2004](#); [Romagosa, 2006](#)).

100

101 Em programas de conservação de peixes nativos ameaçados nada  
102 disso é diferente, sendo que a carência de conhecimento básico é ainda maior,

103 em função da pouca disponibilidade de matrizes. Esta situação limita a realização  
104 de experimentos e o aprimoramento das técnicas de cultivo, além disso,  
105 informações sobre a biologia da espécie na natureza também são em geral muito  
106 restritas e algumas vezes equivocadas o que pode prejudicar o direcionamento  
107 das investigações realizadas em cativeiro.

108

109 Estudos direcionados para o cultivo e preservação de algumas de  
110 nossas espécies têm se intensificado nos últimos anos, não só por sua  
111 importância econômica, como também ambiental. Neste sentido, grupos formados  
112 por diferentes linhas de pesquisa trabalham para o conhecimento de uma  
113 determinada espécie, seu status genético populacional e o domínio do seu ciclo  
114 reprodutivo (Luz et al., 2001; Caneppele et al., 2009; Honji et al., 2009; Tolussi et  
115 al., 2010; Sanches et al., 2010; Okawara et al., 2011).

116

117 Considerando-se o estado de conservação do *Steindachneridion*.  
118 *parahybae* na natureza e o reduzido número de exemplares selvagens  
119 disponíveis para a manipulação reprodutiva em cativeiro, decidiu-se pela  
120 realização do presente estudo.

121

## 122 **2. OBJETIVOS**

123

124 Avaliar a produção espermática do surubim do Paraíba  
125 *Steindachneridion parahybae* ao longo de um ciclo reprodutivo, verificando o  
126 efeito da indução hormonal sobre os parâmetros seminais e as possíveis  
127 correlações entre eles.

128

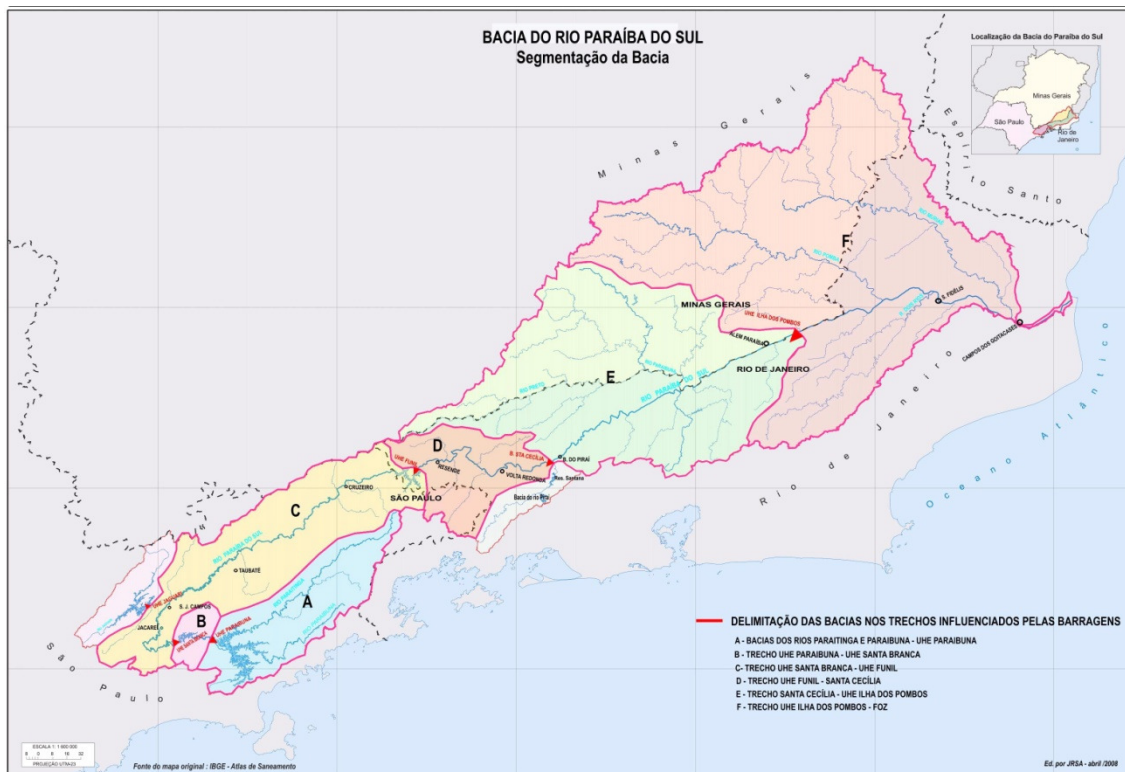
### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 A bacia do rio Paraíba do Sul e sua ictiofauna

Os rios do sudeste brasileiro que possuem a sua drenagem voltada diretamente para o oceano Atlântico são agrupados genericamente como “bacias do leste brasileiro” (Vieira & Rodrigues, 2010). Compreendidas entre a foz do rio São Francisco e o norte do estado de Santa Catarina, constituem a região de endemismo com o maior número de espécies de peixes ameaçadas (59). Esta situação é parcialmente explicável em função da grande extensão territorial desta área, mas deve-se, sobretudo, à degradação ambiental da região, combinado ao alto grau de endemismo da ictiofauna (MMA, 2008). Entretanto, essas bacias apresentam diferenças quanto à formação geológica e história evolutiva, resultando em faunas de peixes diferenciadas (Bizerril, 1994; Ribeiro, 2006).

Entre essas drenagens, a do rio Paraíba do Sul é reconhecida por sua ictiofauna peculiar, e dessa forma, considerada uma ecorregião distinta dentre as demais (Bizerril, 1994; Abell et al., 2008). Formado a partir da confluência dos rios Paraitinga e Paraibuna e com cerca de 1.100 Km comprimento, o rio Paraíba do Sul (Figura 01) é hoje uma das regiões mais industrializadas do país, sendo que extensas regiões da bacia apresentam níveis de degradação elevados (Caneppele et al., 2008). Localizada no eixo principal de desenvolvimento do Brasil sofre com a degradação ambiental desde os ciclos agropecuários (café, gado e silvicultura), porém, foi com a industrialização iniciada em meados do século XX que, outros processos relacionados à urbanização foram desencadeados, como a exploração de areia e construção de barramentos hidroelétricos (Hilsdorf e Petrere, 2002).

O processo desordenado de ocupação do Vale do Paraíba somado a outras atitudes equivocadas como a introdução de espécies de peixe alóctone e de alto nível trófico como o dourado, *Salminus brasiliensis*, , introduzido em 1946 (Machado & Abreu, 1952), contribuíram para a redução de diversas populações nativas de peixes (Caneppele, 2007), estando incluídas entre essas as populações de *Steindachneridion parahybae*.



163  
164  
165

Figura 01: Bacia do Rio Paraíba do Sul – Segmentação por barramentos (FECD, 2008).

166  
167  
168  
169  
170  
171  
172

Assim como nos demais sistemas hídricos brasileiros, raras são as informações sobre a composição original da ictiofauna da bacia do rio Paraíba do Sul. Pode-se considerar que um dos primeiros registros foi o trabalho de [Miranda Ribeiro \(1902\)](#), que apresentou observações sobre oito espécies de peixes do rio Pomba, afluente da margem esquerda do Paraíba do Sul, que nasce em Minas Gerais e deságua no Rio de Janeiro próximo ao município de Itaocara.

173  
174  
175  
176  
177  
178  
179  
180

O trabalho publicado por [Machado & Abreu \(1952\)](#) amplia a área de investigação, monitorando a pesca comercial no início da década de 50, no trecho paulista da bacia do Rio Paraíba do sul, sendo talvez o único registro mais completo sobre a composição pretérita da ictiofauna na região. Nesse trabalho foram relacionadas 26 espécies de peixes, dentre as quais, o popularmente conhecido surubim do Paraíba já aparecia na pesca da região, totalizando a captura de 1.989 Kg, entre os anos de 1950 e 1951 nos municípios paulistas da bacia, onde era considerada como uma das poucas espécies nobres.

181  
182  
183

Levantamentos mais recentes foram publicados abrangendo a ictiofauna característica da região Fluminense da bacia do rio Paraíba do Sul.

184 Coordenados pelos pesquisadores [Bizerril & Primo \(2001\)](#) e com o título “Peixes  
185 de Águas interiores do Estado do Rio de Janeiro”, foram registradas 165 espécies  
186 de peixes para a bacia do rio Paraíba do Sul, sendo que 15,15% deste total foram  
187 consideradas introduzidas, oriundas de outras bacias brasileiras (alóctones) ou de  
188 outros países (exóticas), constituindo grande ameaça à ictiofauna local.

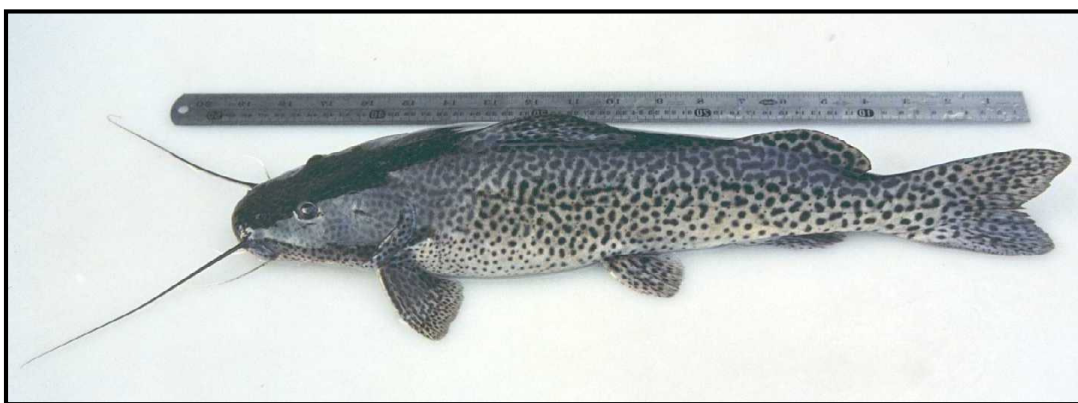
189

### 190 **3.2 A espécie escolhida *Steindachneridion parahybae***

191

192 Recomendada como espécie Criticamente Ameaçada ([MMA, 2008](#)) o  
193 *Steindachneridion parahybae* (Figura 2), pertence à ordem dos Siluriformes,  
194 família Pimelodidae, que abrange as espécies de bagres. Tem corpo achatado,  
195 com o dorso escuro marcado por manchas pequenas e alongadas, seus olhos  
196 são pequenos devido à predominância de atividade noturna e sua percepção do  
197 ambiente é auxiliada pela presença de barbilhões ([Garavello, 2005](#)). Endêmico da  
198 bacia do rio Paraíba do Sul e com biologia pouco conhecida ([Honji et al., 2009](#);  
199 [Caneppele et al., 2009](#)), sua ocorrência natural é descrita normalmente associada  
200 a poções não muito profundos e a áreas intermediárias como os remansos do  
201 domínio das ilhas fluviais e os encontros de rios ([Bizerril, 1999](#)), porém, recentes  
202 capturas foram realizadas em meio à corredeiras, remansos profundos acima de  
203 cachoeiras e no período noturno em regiões mais rasas do rio, provavelmente  
204 quando saem em busca de alimento (comunicação pessoal<sup>1</sup>).

205



206

207

Figura 02: Surubim do Paraíba *Steindachneridion parahybae*.

208

209

210

Apesar de possuir características de espécie migradora ([Garavello, 2005](#)), não existem estudos sobre sua reprodução na natureza. Recentes

<sup>1</sup> Caneppele “comunicação pessoal”, 2011, São Paulo, Brasil - CESP

211 investigações sobre sua reprodução em cativeiro indicam a espécie como de  
212 desova parcelada (comunicação pessoal<sup>2</sup>). Seu hábito alimentar é carnívoro  
213 bentóforo, com a dieta consistindo de peixes e crustáceos (Oliveira & Moraes Jr,  
214 1997).

215

216 Oyakawa et al. (2009), descreveram a situação do surubim do Paraíba  
217 como um dos mais emblemáticos exemplos da situação de ameaça em que se  
218 encontra a fauna de peixes no estado de São Paulo, devido a mudança de status  
219 da espécie, anteriormente classificado na bacia como Criticamente em Perigo  
220 (CR) (MMA, 2008) figura na atual lista Paulista como Regionalmente Extinta (RE)  
221 (SMA, 2009).

222

223 Entretanto, em novembro de 2010, um único exemplar da espécie foi  
224 capturado no município de Lavrinhas – SP, pela equipe da Estação de  
225 Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna, vinculada à Companhia Energética de  
226 São Paulo – CESP (comunicação pessoal<sup>2</sup>), porém, este fato não significa a  
227 presença de uma população resistente na localidade que, por uma ironia do  
228 destino se encontra em plena transformação com a implantação de duas  
229 Pequenas Centrais Hidrelétricas (PCHs) (CEIVAP, 2009).

230

231 No restante da bacia, as raras populações de surubim do Paraíba que  
232 foram localizadas nos estados do Rio de Janeiro e de Minas Gerais também estão  
233 em constante perigo. Só na última década foram registrados dois grandes  
234 desastres ambientais. No primeiro, ocorrido em março de 2003, o rio Pomba foi  
235 afetado severamente pelo vazamento de uma lagoa de tratamento de efluentes  
236 localizada no município de Cataguases, Minas Gerais, já o segundo, em  
237 novembro de 2008, foi provocado por um vazamento de organoclorados no Rio  
238 Pirapitinga, afluente do Rio Paraíba, em Resende, Rio de Janeiro, ambos  
239 provocando grande mortandade de peixes, entre os quais o surubim do Paraíba,  
240 sendo que um dos exemplares media cerca de 60 a 70 cm de comprimento  
241 (Oyakawa et al, 2009).

242

---

<sup>2</sup> Romagosa “comunicação pessoal”, 2011, São Paulo, Brasil – Instituto de Pesca



243 As diferentes formas de pressão ambiental, instantâneas como as dos  
244 acidentes descritos acima, ou contínuas, relacionadas a mais de um século de  
245 transformações no hábitat original, implicam diretamente na estrutura da  
246 ictiofauna e na biologia das espécies de peixes do rio Paraíba do Sul, reforçando  
247 ainda mais a necessidade de investigações das características reprodutivas do  
248 surubim do Paraíba.

249

### 250 **3.3 As ações da CESP na bacia**

251

252 A Implantação de hidrelétricas, além dos benefícios gerados à  
253 sociedade, produz também consequências ambientais e significativas alterações  
254 sociais regionais, que tanto podem representar limitações como novas  
255 oportunidades para deflagrar um processo de desenvolvimento em sua área de  
256 influência (CESP, 1992).

257

258 Na questão ambiental, o maior impacto produzido pelos barramentos  
259 se dá sobre a ictiofauna e diz respeito à regularização da vazão do rio, o que  
260 atenua os picos de cheias, fato que interfere diretamente no mecanismo anual de  
261 enchimento e esvaziamento das áreas de reprodução de peixes de espécies  
262 migradoras (Torloni et al., 1986; Agostinho et al., 1992). Associado a esse  
263 impacto, e como consequência do mesmo, também estão a redução ou  
264 eliminação de áreas de desova nos rios tributários e dos locais de  
265 desenvolvimento de formas jovens (lagoas e alagadiços marginais), em razão de  
266 seu encobrimento pelas águas represadas (CESP, 1996).

267

268 Esses ambientes, normalmente existentes ao longo do curso de um rio  
269 sem barramentos, são responsáveis pela manutenção sustentada das populações  
270 de peixes, principalmente das espécies migradoras, funcionando como berçário  
271 ou criadouros, de onde saem os peixes jovens que, tornam-se disponíveis à  
272 pesca, após terem efetuado várias reproduções e deixando descendência. Além  
273 disso, os barramentos impedem a realização de migrações reprodutivas e  
274 alimentares, e a dispersão de jovens, rio abaixo (Welcomme, 1985).

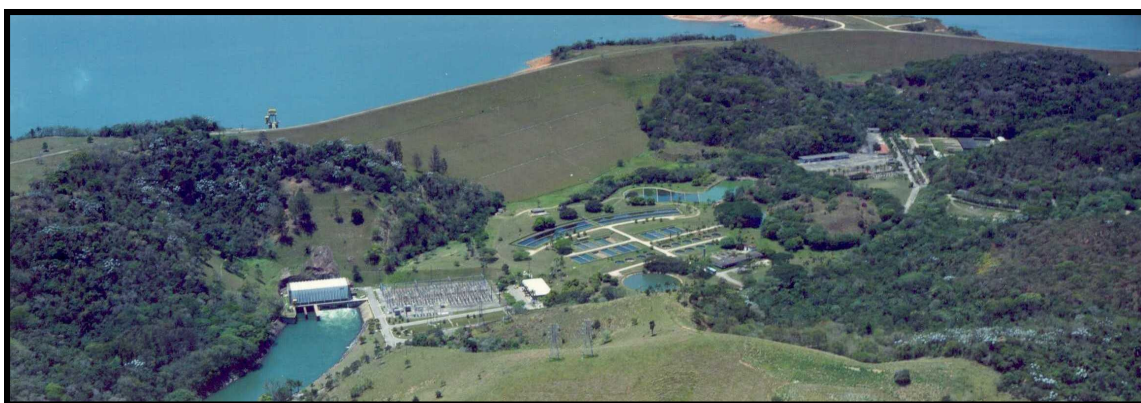
275

276 Apesar das pressões impostas à bacia do rio Paraíba do sul ao longo  
277 da história, a Companhia Energética de São Paulo – CESP, em função dos seus  
278 empreendimentos hidrelétricos implantados na região e consciente das  
279 transformações geradas por eles, implantou, dentre outras estruturas e ações  
280 para mitigação destes impactos, a Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de  
281 Paraibuna (EHA) (Figura 03).

282

283 Inaugurada em 08 de abril de 1981, a EHA de Paraibuna trabalhou  
284 inicialmente focada no incremento da produção pesqueira dos reservatórios e no  
285 fomento à piscicultura regional. A mais de 20 anos está voltada para a  
286 conservação de espécies da ictiofauna nativa da bacia do rio Paraíba do Sul,  
287 dentre as quais pode-se citar como prioritárias, aquelas que figuram nas listas de  
288 espécies ameaçadas estaduais e federais, como a pirapitinga do sul (*Brycon*  
289 *opalinus*), a piabanha (*Brycon insignis*) e o surubim do Paraíba (*Steindachneridion*  
290 *parahybae*) (MMA, 2008; SMA, 2009), sempre buscando parcerias para o  
291 desenvolvimento de tecnologias reprodutivas e o diagnóstico do status de  
292 conservação destas espécies na natureza.

293



294

295 Figura 03: Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna, Unidade de Produção  
296 Rio Paraíba - CESP

297

298 O contínuo esforço da equipe da Companhia para a captura de  
299 exemplares selvagens dessas espécies deu origem a um projeto de pesquisa e  
300 desenvolvimento aprovado pela ANEEL (Agência Nacional de Energia Elétrica)  
301 direcionado para a formação de um banco genético vivo, caracterização genética  
302 das populações e o desenvolvimento de tecnologias de criopreservação de  
303 sêmen. Este projeto teve por objetivo principal resgatar na natureza o que ainda  
304 restou de variabilidade genética dessas três espécies e propor uma metodologia

305 de reintrodução baseada no conhecimento da distribuição genética das  
306 populações selvagens (Caneppele et al., 2008).

307

308 Além disso, a ampliação qualitativa e numérica dos plantéis dessas  
309 espécies nos fornece a possibilidade de ampliação das investigações, facilitando  
310 o desenvolvimento de tecnologia para a produção de pirapitinga, piabanha e  
311 surubim do Paraíba em cativeiro (Andrade-Talmelli, et al., 2001; Caneppele et al.,  
312 2009; Sanches et al., 2010; Okawara et al., 2011).

313

314 Especificamente no caso do surubim do Paraíba, a EHA de Paraibuna  
315 possui hoje 33 exemplares selvagens, capturados em quatro diferentes  
316 localidades da bacia do rio Paraíba do sul e um lote de 300 exemplares  
317 produzidos em dezembro de 2003, a partir dois casais selvagens, na primeira  
318 reprodução artificial registrada da espécie (Caneppele et al, 2009),  
319 disponibilizados para investigações científicas e a ampliação do seu  
320 conhecimento biológico.

321

322 Ainda são muitos os desafios, sendo que o presente estudo surgiu da  
323 necessidade do desenvolvimento de conhecimentos básicos, para que outros  
324 passos possam ser dados visando o domínio da reprodução artificial e a  
325 conservação do surubim do Paraíba.

326

### 327 **3.4 Propagação artificial**

328

329 A propagação artificial ou reprodução induzida se configura como um  
330 dos principais aspectos para o avanço sustentável da produção piscícola  
331 (Romagosa, 2006), que impulsionada pelo constante aumento da população  
332 mundial e a crescente demanda por alimentos mais saudáveis, vem apresentando  
333 vertiginoso avanço em todo o mundo (Donaldson, 2003).

334

335 De acordo com Zaniboni Filho e Nuñez (2008) a piscicultura, também  
336 pode contribuir na conservação de populações selvagens por meio do aumento  
337 da oferta de pescado, reduzindo a pressão sobre os estoques naturais.

338

339 A consolidação da produção de alevinos, sejam eles destinados à  
340 engorda comercial em cativeiro ou para a reintrodução em ambientes naturais,  
341 depende fundamentalmente do conhecimento e do controle do processo  
342 reprodutivo. Contudo para muitas espécies nativas de água doce tais processos  
343 ainda não são dominados a ponto de abastecer o mercado de alevinos em larga  
344 escala (Weingartner et al, 2008).

345

### 346 **3.5 Qualidade de gametas masculinos**

347

348 Um dos fatores limitantes para o controle e sucesso do processo  
349 reprodutivo é a utilização de gametas masculinos e femininos de qualidade que  
350 possam promover a máxima fertilização e o desenvolvimento normal dos  
351 embriões (Bobe & Labbé, 2009). Entretanto, os estudos por muito tempo  
352 estiveram mais focados na qualidade dos ovócitos e larvas, sem grandes  
353 preocupações com a qualidade do esperma. Segundo Rurangwa (2004) o  
354 esperma é frequentemente inadequado em termos de qualidade e quantidade  
355 durante a propagação artificial, comumente empregada nas estações de  
356 piscicultura.

357

358 Na maioria das espécies de peixes, os espermatozóides são imóveis  
359 nos testículos e no plasma seminal (Morisawa & Morisawa, 1990). Portanto, a  
360 motilidade apenas é induzida logo após os espermatozóides serem liberados e  
361 entrarem em contato com o ambiente aquoso durante a reprodução natural ou  
362 com o diluente durante a propagação artificial (Cosson, 2010).

363

364 De um modo geral, encontram-se poucas informações na literatura  
365 mencionando o tempo de viabilidade dos gametas da ictiofauna nativa após a  
366 liberação sem ativação, sendo que o procedimento mais recomendado é a rápida  
367 homogeneização dos gametas (Zaniboni Filho & Weingartner, 2007), baseando-  
368 se na hipótese de que os ovócitos e o sêmen podem perder a viabilidade ao longo  
369 do tempo (Rizzo et al., 2003; Marques & Godinho, 2004; Sanches, 2009).

370

371 Murgas et al. (2011) destacam que a avaliação das características  
372 seminais é imprescindível na rotina de reprodução artificial em qualquer espécie.

373 Para a descrição do perfil espermático, são necessárias análises das  
374 características físicas do sêmen (volume, taxa e duração da motilidade  
375 espermática, concentração e morfologia), sendo que para a determinação da  
376 viabilidade espermática tais parâmetros podem ser relacionados às taxas de  
377 fertilização (Fogli da Silveira et al., 1988; Billard & Cosson, 1992; Billard et al.,  
378 1995; Rurangwa et al., 2004; Sanches, 2009).

379

380 A produção espermática pode ser variável entre as diversas espécies e  
381 até mesmo dentro de uma mesma espécie de peixe, podendo ser influenciada  
382 pela estação do ano, clima, período de repouso (dormência) e método de coleta  
383 (Murgas et al., 2011).

384

385 Em relação à qualidade do sêmen, a motilidade espermática,  
386 usualmente expressa pela percentagem de espermatozoides móveis em sêmen  
387 adequadamente ativado (Marques & Godinho, 2004), é comumente utilizada na  
388 determinação da viabilidade espermática de peixes (Billard & Cosson, 1992;  
389 Rurangwa et al., 2004,). A motilidade é controlada através da sensibilidade à  
390 osmolaridade e as concentrações de íons, fenômeno este relacionado às  
391 atividades do canal iônico na membrana, que regulam os mecanismos de  
392 motilidade dos axonemas, a parte ativa dos flagelos (Cosson, 2010). Em peixes  
393 de água doce a exposição do sêmen à hipotonicidade do meio induz à iniciação  
394 da motilidade espermática (Takai & Morisawa, 1995). Entretanto, a diminuição da  
395 capacidade de natação dos espermatozoides é originada em parte pela  
396 diminuição do estoque de energia ocorrida em função da rápida resposta de  
397 ativação pelo meio circundante elevando a brevidade do período móvel (Billard,  
398 1990; Cosson et al, 1999).

399

400 Provavelmente a exaustão de energia (ATP) contida na mitocôndria  
401 restringe também a motilidade, tendo como hipótese que a mitocôndria seja o  
402 reservatório endógeno de fonte de energia para a motilidade de espermatozoides  
403 de peixes ovulíparos (Gwo, 1995).

404

405 Cosson (2010) ressalta ainda que a duração da motilidade dos  
406 espermatozoides de peixes também é limitada por danos que aparecem durante a

407 período de mobilidade, resultantes de defeitos de membrana gerados pelo  
408 estresse osmótico, bolhas citoplasmáticas ou por um processo de “curling”  
409 (enrolamento) desenvolvido na ponta do flagelo, reduzindo a eficiência das ondas  
410 de propagação. Uma das possíveis causas deste dano no sêmen é a  
411 contaminação com urina no momento da extrusão (Dreanno et al, 1998; Perchec  
412 et al, 1998).

413

414 Para a estimativa da taxa de motilidade é comumente observada a  
415 movimentação dos espermatozóides (microscópios de luz ou em contraste de  
416 fase com aumentos variando entre 100 e 650x), logo após a introdução da  
417 solução ativadora (Billard & Cosson, 1992; Marques & Godinho, 2004; Sanches,  
418 2009), por meio de métodos subjetivos (Billard et al., 1993). Entretanto, Sanches  
419 (2009) ressalta que estas mensurações têm levantando dúvidas quanto a sua  
420 validação, pois, dependem basicamente da experiência do observador.  
421 Recentemente, por meio de softwares específicos, vem-se utilizando programas  
422 computacionais tais como, computer assisted sperm analysis (CASA), na  
423 avaliação espermática de peixes (Rurangwa et al., 2001; Wilson-Leedy &  
424 Ingermann, 2007; Matos et al., 2008; Sanches, 2009).

425

426 Este novo método pode ser útil no estabelecimento de padrões de  
427 comportamento espermático relacionados positivamente com taxas de fertilização  
428 e qualidade das larvas para as espécies de peixes estudadas, identificando quais  
429 reprodutores do plantel são realmente mais eficazes, possibilitando assim a  
430 redução dos custos na piscicultura (Sanches, 2009). Porém a utilização dessa  
431 técnica depende de ajustes e validação do método, além do custo dos  
432 equipamentos necessários ainda estar fora da realidade da maioria das  
433 pisciculturas nacionais.

434

435 A concentração ou densidade espermática expressa a quantidade de  
436 espermatozóides por mL de sêmen e é normalmente determinada através da  
437 contagem em câmaras volumétricas, após uma diluição conhecida do sêmen em  
438 formolcitrato (Felizardo et al., 2010). Este parâmetro serve como base para a  
439 definição das doses inseminantes mais eficazes na fertilização dos ovócitos

440 visando à economia de gametas e a otimização de matrizes (Bombardelli et al.,  
441 2006; Shimoda et al., 2007; Sanches et al., 2009).

442

443 Em relação à morfologia espermática, alterações na estrutura dos  
444 espermatozoides são consideradas por Cosson et al. (1999) como responsáveis  
445 pela diminuição da motilidade, provocando a redução nas taxas de fertilização,  
446 afetando a eficiência do reprodutor (Rurangwa et al., 2004). Para mamíferos, não  
447 é recomendada a utilização de sêmen com índices de alterações morfológicas  
448 acima de 30% para bovinos e de 20% para suínos (CBRA, 1998), Porém, para  
449 peixes ainda não estão definidos índices morfológicos que possam indicar até que  
450 ponto os reprodutores são viáveis (Sanches, 2009).

451

452 Segundo Luz et al. (2001) a produção e a qualidade seminal de peixes  
453 teleósteos pode variar conforme o tamanho do exemplar, época e metodologia de  
454 coleta. Outros fatores como a idade dos reprodutores (Bastardo et al., 2004),  
455 realização de coletas seminais sucessivas (Kavamoto et al., 1997), utilização ou  
456 não terapias hormonais (Kavamoto & Fogli da Silveira, 1986; Godinho, 2007); tipo  
457 de hormônio (Streit Jr. et al., 2003; Streit Jr. et al., 2004.; Bombardelli et al.,  
458 2006b) e a alimentação dos reprodutores (Sanches et al., 2006), também podem  
459 influenciar nos parâmetros espermáticos.

460

461 A composição bioquímica do plasma seminal varia amplamente entre  
462 as espécies e entre indivíduos da mesma espécie, relacionando-se à diferentes  
463 concentrações de proteínas, enzimas, lipídios (Perchec et al., 1993; Lahnsteiner  
464 et al., 1996), açúcares e ácidos (Piironen & Hyvärinen, 1983), e outras moléculas,  
465 as quais dão suporte aos espermatozoides mantendo a motilidade, a viabilidade e  
466 a capacidade para a fertilização (Wojtczak et al., 2005).

467

468 Ainda são observados muitas lacunas de conhecimento sobre a  
469 composição e as características do plasma seminal das espécies de peixes  
470 estudadas (Ciereszko, 2008).

471

472 Apesar da aparente evolução da ciência aplicada, falta ainda  
473 embasamento na pesquisa básica, o que tem dificultado a interpretação de

474 resultados (Romagosa, 2008). Este fato justifica a necessidade do  
475 desenvolvimento de estudos que tenham como objetivo a investigação de  
476 aspectos básicos da biologia reprodutiva das espécies.

477

#### 478 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

479

480 ABELL, R.; THIEME, M.L, REVENGA, C. et al. Freshwater ecoregions of the  
481 word: a new map of biogeographic units for freshwater biodiversity conservation.  
482 **BioScience**, v.58, n.5, p406-414, 2008.

483 AGOSTINHO, A.A. Manejo de recursos pesqueiros em reservatórios. In  
484 AGOSTINHO, A.A. & BENEDITO-CECÍLIO, E. (Ed.) **Situação atual e**  
485 **perspectivas da ictiologia no Brasil**. Maringá: Ed. UEM, 1992. p.106-121

486 ANDRADE-TALMELLI, E.F.; KAVAMOTO, E.T.; FENERICH-VERANI, N.  
487 Características seminais da piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1876), após  
488 estimulação hormonal. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.27, n.2,  
489 p.149 - 154, 2001.

490 BARBIERI, G.; SALLES, F.A.; CESTAROLLI, M.A. et al. Estratégias  
491 reprodutivas do dourado, *Salminus maxillosus* e do curimatá, *Prochilodus*  
492 *lineatus* no Rio Mogi Guaçu, Estado de São Paulo, com ênfase nos parâmetros  
493 matemáticos da dinâmica populacional. Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento  
494 de Pirassununga. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 26, n. 2,  
495 p. 169-174, 2004.

496 BASTARDO, H.; GUEDEZ C.; LEON M. Características del semen de trucha  
497 arco-iris de diferentes edades, bajo condiciones de cultivo em Mérida, Venezuela.  
498 **Zootecnia Tropical**.v.22 n.3, p. 277-288, 2004.

499 BILLARD, R., Artificial insemination in fish. In: LAMMING, G.E., (Ed.)  
500 **Marshall's Physiology of Reproduction** . v.2. Edinburgh: Churchill Livingstone,  
501 1990, p.870-888.

502 BILLARD, R., COSSON, M.P., 1992. Some problems related to the  
503 assessment of sperm motility in freshwater fish. **The Journal of Experimental**  
504 **Zoology**, v.261, p.122-131, 1992.

505 BILLARD, R.; COSSON, J.; CRIM, L. W. Motility of fresh and aged halibut  
506 sperm. **Aquatic Living Resources**, v.6, p.67-75, 1993.

507 BILLARD, R.; COSSON, J.; CRIM, L.W. et al. Broodstock management and  
508 seed quality-General considerations. In: Bromage, N., Roberts, R. J. (Ed.).  
509 **Broodstock management and egg larval quality**. Oxford: Blackwell Science,  
510 1995, p. 1-24.

511 BIZERRIL, C.R.S.F. A ictiofauna da bacia do rio Paraíba do Sul.  
512 Biodiversidade e padrões biogeográficos. **Brazilian Archives of Biology and**  
513 **Technology**, v.42, n.2, p. 233-250, 1999.

514 BIZERRIL, C.R.S.F. Análise taxonômica e biogeográfica da ictiofauna de água  
515 doce do leste brasileiro. **Acta Biológica Leopoldensia**, v.16, p.51-80, 1994.



- 516 BIZERRIL, C.R.S.F.; PRIMO, P.B.S. **Peixes de águas interiores do estado**  
517 **do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: FEMAR-SEMADS. 2001, 417p.
- 518 BOBE, J.; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. **General and**  
519 **Comparative Endocrinology**, v.165, p.535-548, 2009.
- 520 BOCKUP, P.A.; MENEZES N.A; GHAZZI, M.S. (Ed.). **Catálogo das espécies**  
521 **de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro. Museu Nacional, 2007. 195p
- 522 BOMBARDELLI, R.A.; MÖRSCHBÄCHER, E.F.; CAMPAGNOLO, R. et al.  
523 Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza *Rhamdia*  
524 *quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35 n.4,  
525 p.1251-1257, 2006.
- 526 BOMBARDELLI, R.A.; SYPERREK, M.A.; SANCHES, E. A. Hormônio liberador  
527 de gonadotrofinas em peixes: aspectos básicos e suas aplicações. **Arquivos de**  
528 **ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.9, n.1, p.59-65, 2006b.
- 529 CANEPPELE, D., 2007. Peixes. in: FERREIRA, P.C. (Ed) **A Biologia e a**  
530 **Geografia do Vale do Paraíba: Trecho Paulista**. IEPA – Instituto Ecológico de  
531 Proteção da Natureza. São José dos Campos, 2007. p.91-103.
- 532 CANEPPELE, D.; HONJI, R.M.; HILSDORF, A.W. S. et al. Induced spawning of  
533 the endangered neotropical species *Steindachneridion parahybae*  
534 (Siluriforme:Pimelodidae). **Neotropical Ichthyology**, v.7 n.4, p.759-762, 2009.
- 535 CANEPPELE, D.; POMPEU, P.; GARAVELLO, J.C. Surubim do Paraíba  
536 (*Steindachneridion parahybae*). In: MACHADO, A.B.M.; DRUMMOND, G.M. &  
537 PAGLIA, A.P. (Ed.) **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de**  
538 **Extinção**. Brasília, DF: MMA; Belo Horizonte – MG: Fundação Biodiversitas,  
539 2008, vol II., p.236-238.
- 540 CAROLSFELD, J.; GODINHO, H.P.; ZANIBONI FILHO, E. et al.  
541 Cryopreservation of sperm in Brazilian migratory fish conservation. **Journal of**  
542 **Fish Biology**, v.63, p.472–489, 2003.
- 543 CEIVAP. **Pelas Águas do Paraíba**, Comitê de integração da Bacia  
544 Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul – CEIVAP. Resende, RJ, n.3, ano III, 2009,  
545 47p.
- 546 CESP. **Aspéctos limnológicos, ictiológicos e pesqueiros de reservatórios**  
547 **da CESP no período de 1986 a 1994**. Companhia Energética de São Paulo,  
548 Série Pesquisa e desenvolvimento n.136, São Paulo, SP, 1996, 81p.
- 549 CESP. **Plano Diretor do Reservatório de Paraibuna. 2ª edição**. Companhia  
550 Energética de São Paulo, Série Pesquisa e desenvolvimento n.68, São Paulo, SP,  
551 1992, 291p.
- 552 CIERESZKO, A. (2008). Chemical composition of seminal plasma and its  
553 physiological relationship with sperm motility, fertilizing capacity and  
554 cryopreservation in fish. In: ALAVI, S.M.H.; COSSON, J.J.; COWARD, K. et al.  
555 **Fish Spermatology**. Oxford: Alpha Science Ltd, 2008, p.215–240.
- 556 COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual para**  
557 **exame andrológico e avaliação do sêmen animal**. 2. ed. Belo Horizonte:  
558 Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1998. 49p.

- 559 COSSON J. Frenetic activation of fish spermatozoa flagella entails short-term  
560 motility, portending their precocious decadence. **Journal of Fish Biology**, v.76,  
561 p.240-279, 2010.
- 562 COSSON, J.; BILLARD, R.; CIBERT, C. Regulation of axonemal wave  
563 parameters of fish spermatozoa by ionic factors. In: GAGNON, C. (Ed): **The male**  
564 **gamete: from basic knowledge to clinical applications**. Paris: Cache River,  
565 1999. p. 161-186.
- 566 DONALDSON, E.M. Reproductive endocrinology of fishes. **American Zoology**.  
567 v.13: p.909-927, 2003.
- 568 DREANNO, C.; SUQUET, M.; DESBRUYERES, E. et al. Effect of urine on  
569 semen quality in Turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, v.169, p.247–  
570 262, 1998.
- 571 FECD. **Diagnóstico ambiental do Rio Paraíba do Sul no trecho Funil Santa**  
572 **Cecília com base no monitoramento da ictiofauna**. Vol. I Projeto FECD/CSN  
573 2005/2007. Fundação Educacional Charles Darwin, 2008. 53p
- 574 FELIZARDO V.O.; MURGAS L.D.S.; DRUMOND M.M. et al. Dose inseminante  
575 utilizada na fertilização artificial de ovócitos de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*).  
576 **Revista Ceres**, v.57, p.648-652, 2010.
- 577 FOGLI DA SILVEIRA, W.; KAVAMOTO, E.T.; RIGOLINO, M.G. Fertilidade do  
578 sêmen de truta arco-íris, *Salmo irideus gibbons*, em diferentes concentrações de  
579 espermatozoides por óvulo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.15 n.1,  
580 p.51-54, 1988.
- 581 GARAVELLO, J. C. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes:  
582 Pimelodidae). **Neotropical Ichthyology**, v.3 n.4, p.607- 623, 2005.
- 583 GODINHO, H.M. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura:  
584 bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de**  
585 **Reprodução Animal**, v.31, n.3, p.351-360, 2007.
- 586 GODINHO, H.M.; ROMAGOSA, E.; CESTAROLLI, M.A. et al. Reprodução  
587 induzida de curimatá *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881) sob condições de  
588 cultivo experimental. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte,  
589 v.8, n.2, p.113-119, 1984.
- 590 GWO, J. Ultrastructural study of osmolality effect on spermatozoa of three  
591 marine teleosts. **Tissue & Cell**, v.27, n.5, p.491-497, 1995.
- 592 HILSDORF, A.W.S.; PETRERE M. Conservação de peixes na bacia do rio  
593 Paraíba do Sul. **Ciência Hoje**, v.30, p.62-65, 2002.
- 594 HONJI, R.M.; CANEPPELE, D.; HILSDORF, A.W.S. et al. Threatened fishes of  
595 the world: *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) (Siluriformes:  
596 Pimelodidae). **Environmental Biology of Fishes**, 85, 207–208, 2009.
- 597 IHERING, R.V.; AZEVEDO, P. A desova e a hipofização dos peixes. Evolução  
598 de dois Nematognathas. **Archivos Instituto Biológico** v.7 n.9, p.107-118, 1936.
- 599 KAVAMOTO, E.T.; FOGLI DA SILVEIRA, W. Características físicas, químicas  
600 e microscópicas do sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) em  
601 condições de campo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.13, p.95-100, 1986.

- 602 KAVAMOTO, E.T.; MAINARDES-PINTO, C.S.R.; ANDRADE-TALMELLI, E.F.  
603 et al. Produção espermática do curimatá *Prochilodus scrofa*. Steindachner, 1881,  
604 **Boletim do Instituto de Pesca**, v.24, p.73-78, 1997.
- 605 LAHNSTEINER, F. Morphological, physiological and biochemical parameters  
606 characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs. **Fish Physiology and**  
607 **Biochemistry**, v.23, p.107– 118, 2000.
- 608 LAHNSTEINER, F.; BERGER, B.; WEISMANN, T. et al. Motility of  
609 spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal  
610 plasma composition and sperm metabolism. **Fish Physiology and Biochemistry**,  
611 v.15, n.2, p.167- 179, 1996.
- 612 LUZ, R.K.; FERREIRA, A.A.; REYNALT, D.A.T. et al.. Avaliação qualitativa e  
613 quantitativa do sêmen do suruvi, *Steindachneridion scripta* (pimelodidae). **Boletim**  
614 **do Instituto de Pesca**, v.27, n.1, p.39-42, 2001.
- 615 MACHADO, C.E.M.; ABREU H.C.F. Notas preliminares sobre a caça e a pesca  
616 no Estado de São Paulo. A pesca no Vale do Paraíba. **Boletim da Indústria**  
617 **Animal**, v.13:145-160, 1952.
- 618 MARQUES, S.; GODINHO, H.P. Short-term Cold Storage of Sperm from Six  
619 Neotropical Characiformes Fishes. Brazilian **Archives of Biology and**  
620 **Technology**, 47 (5), 799-804, 2004.
- 621 MATOS, D.L; ARAÚJO, A.A.; ROBERTO, I.G. et al. Análise computarizada de  
622 espermatozoides: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução**  
623 **Animal**, Belo Horizonte, v.32, n.4, p.225-232, 2008.
- 624 MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA. **Livro Vermelho da Fauna**  
625 **Ameaçada de Extinção, 1ª.ed.** MACHADO, A.B.M., DRUMMOND, G. M.,  
626 PAGLIA, A.P. (Ed). Brasília, DF: MMA; Belo Horizonte – MG: Fundação  
627 Biodiversitas, 2008, vol II. 1420 p.
- 628 MIRANDA-RIBEIRO, A. Oito espécies de peixes do Rio Pomba. **Boletim da**  
629 **Sociedade Nacional de Agricultura**. Rio de Janeiro, 1902. 1-8.
- 630 MORISAWA, M.; MORISAWA, S. Aquisition and initiation of sperm motility. In  
631 GAGNON, C. (Ed.) **Controls of Sperm Motility: Biological and Clinical**  
632 **Aspects** Boca Raton, FL: CRC Press, 1990. p. 137–152.
- 633 MURGAS, L.D.S.; FELIZARDO, V.O.; FERREIRA, M.R. et al. Importância da  
634 avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. **Revista Brasileira**  
635 **Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.186-191, 2011.
- 636 NELSON, J.S. **Fishes of the World**. 4ª ed, John wiley&Sons, 601p
- 637 OKAWARA, R.Y.; SANCHES, E.A.; CANEPPELE, D. et. al. Fertilização de  
638 ovócitos de surubim-do-Paraíba, *Steindachneridion parahybae* em diferentes  
639 unidades térmicas acumuladas – UTAs. III Conferência Latinoamericana Sobre  
640 Cultivo de Peixes Nativos; III Congresso Brasileiro de Produção de Peixes  
641 Nativos, **Anais...**, Lavras, MG, 2011
- 642 OLIVEIRA, J.C.; MORAES JR., D.F., 1997. Dados adicionais à descrição de  
643 *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1876) (Teleostei, Siluroidei,  
644 Pimelodidae). **Boletim do Museu Nacional**, 384, 1-11.

- 645 OYAKAWA, O.T.; MENEZES, N.A.; SHIBATTA, O.A. Peixes de água doce. In:  
646 BRESSAN, P. M.; KIERULFF, M. C. M.; SUGIEDA, A. M. (Ed.). **Fauna ameaçada**  
647 **de extinção no Estado de São Paulo**. São Paulo: Fundação Parque Zoológico  
648 de São Paulo/Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, 2009, p.349-  
649 424.
- 650 PERCHEC, P.G.; COSSON, J.; ANDRÉ, F. et. al. La motilité des  
651 spermatozoïdes de truite (*Oncorhynchus mykiss*) et de carpe (*Cyprinus carpio*).  
652 **Journal Applied Ichthyology**, v.9, p.129-149, 1993.
- 653 PERCHEC, P.G.; PAXION, C.; COSSON, J. et. al. Initiation of carp  
654 spermatozoa motility and early ATP reduction after milt contamination by urine.  
655 **Aquaculture**, v.160, p.317–328, 1998.
- 656 PIIRONEN, J.; HYVÄRINEN, H. Composition of the milt of some teleost fishes.  
657 **Journal of Fish Biology**, v.22, p.351-361, 1983.
- 658 RIBEIRO, A.C. Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes  
659 from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution  
660 associated with a divergent continental margin. **Neotropical Ichthyology**, v.4, n.2,  
661 p.225-246, 2006.
- 662 RIZZO, E.; GODINHO, H.P.; SATO, Y. Short-term storage of oocytes from the  
663 neotropical teleost fish *Prochilodus marginatus*. **Theriogenology**, v.60, p.1059-  
664 1070, 2003.
- 665 ROMAGOSA, E. Biologia reprodutiva e fisiologia de peixes em confinamento: o  
666 cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* como modelo. In: CYRINO, J.E.P.;  
667 URBINATI E.C. (Ed) **Tópicos Especiais em Biologia Aquática e Aqüicultura**.  
668 Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Jaboticabal, SP, 2006.  
669 p.108-116.
- 670 ROMAGOSA, E. Avanços na reprodução de peixes migradores. In: CYRINO,  
671 J.E.P.; URBINATI E.C. (Ed.) **Tópicos Especiais em Biologia Aquática e**  
672 **Aqüicultura**. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática,  
673 Jaboticabal, SP, 2008. p. 1-16.
- 674 RURANGWA E.; VOLCKAERT F.A.M.; HUYSKENS G. et. al. Quality control of  
675 refrigerated and cryopreserved semen using computer-assisted sperm analysis  
676 (CASA), viable staining and standardized fertilization in african catfish (*Clarias*  
677 *gariepinus*). **Theriogenology**, v.55, p.751-769, 2001.
- 678 RURANGWA, E.; KIME, D.E.; OLLEVIER, F. et. al. The measurement of sperm  
679 motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. **Aquaculture**, v.234,  
680 p.1–28, 2004.
- 681 SANCHES, E.A. **Efeito da estocagem a curto prazo e da temperatura sobre**  
682 **gametas de Jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824)**. Jaboticabal:  
683 UNESP, 2009. 88p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura-CAUNESP), Campos  
684 Joboticabal, 2009.
- 685 SANCHES, E.A.; BOMBARDELLI, R.A.; BAGGIO, D.M. et al. Dose  
686 inseminante para fertilização artificial de ovócitos de dourado. **Revista Brasileira**  
687 **de Zootecnia**, v.38 n.11, p.2091-2098, 2009.
- 688 SANCHES, E.A.; CANEPPELE D.; SANTOS D.R. et al.. Artificial fertilization of  
689 oocytes from surubim-do-paraíba *Steindachneridion parahybae*, with different

- 690 insemination doses and water volume. In: AQUACULTURE EUROPE 2010 –  
691 WAS. **Anais...** Porto, Portugal, 2010. p. 1166-1167.
- 692 SANCHES, E.A.; MARCOS, R.M.; BAGGIO, D.M. et. al. Desempenho  
693 reprodutivo de machos de jundiá cinza (*Rhamdia quelen*) (Quoy & Gaimard, 1824)  
694 submetidos a dietas contendo diferentes níveis de energia digestível. In:  
695 SINPÓSIO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PESCA, 2006, Toledo,  
696 **Anais...**Toledo: CECE Unioeste Campus Toledo (CD-ROM).
- 697 SCORVO FILHO, J.D.. Piscicultura em tanques-rede uma alternativa para  
698 grandes e pequenos corpos d'água. In: **AveSui América Latina**, Florianópolis  
699 Brasil, 2008.
- 700 SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE - SMA. **Fauna Ameaçada De Extinção**  
701 **no Estado de São Paulo: Vertebrados**. BRESSAN P.M.; KIERULFF M.C.M.;  
702 SUGIEDA A.M. (Coordenação). Fundação Parque Zoológico de São Paulo: SMA.  
703 São Paulo, SP, 2009. 645p
- 704 SHIMODA, E.; ANDRADE, D.R.; VIDAL JÚNIOR, M.V. et. al. Determinação da  
705 razão ótima de espermatozóides por ovócitos de piabanha *Brycon insignis* (pisces  
706 - characidae). **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo  
707 Horizonte, v.59, n.4, p.877-882, 2007.
- 708 STREIT JR., D.P.; MORAES, G.V.; RIBEIRO, R.P. et. al. Estudo comparativo  
709 da indução hormonal da espermição em piavuçu (*Leporinus macrocephalus*)  
710 com extrato de hipófise de frango, coelho e carpa. **Acta Scientiarum, Animal**  
711 **Sciences**, v.25, n.2, p.261-266, 2003.
- 712 STREIT JR., D.P.; MORAES, G.V.; RIBEIRO, R.P. et. al. Comparação do  
713 sêmen de Curimbá (*Prochilodus lineatus*) induzido por extrato de hipófise de  
714 frango, coelho ou carpa. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**,  
715 v.41, p.147-153, 2004.
- 716 TAKAI, H.; MORISAWA, M. Change in intracellular K<sup>+</sup> concentration caused by  
717 external osmolality change regulates sperm motility of marine and freshwater  
718 teleosts. **Journal of Cell Science**, v.108, p.1175–1181, 1995.
- 719 TOLUSSI, C.E.; HILSDORF, A.W.S.; CANEPPELE, D. et al. The effects of  
720 stocking density in physiological parameters and growth of the endangered teleost  
721 species piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1877). **Aquaculture**, v.310,  
722 p.221–228, 2010.
- 723 TORLONI, C.E.C.; GIRARDI, L.; NASCIMENTO, E.P. et. al. **Considerações**  
724 **sobre a utilização de escadas para peixes e de estações de aquicultura na**  
725 **conservação da fauna ictiica no Estado de São Paulo. 2ª Ed.** São Paulo:  
726 CESP (Coleção Ecossistemas Aquáticos, 003), 1986. 8p.
- 727 VIEIRA, F, RODRIGUES R R. A fauna de peixes dos afluentes do rio Paraíba  
728 do Sul no estado de Minas Gerais. **MG.BIOTA**, Belo Horizonte, v.3, n.1, p.5-23,  
729 2010.
- 730 VIVEIROS, A.T.M.; GODINHO, H.P. Sperm quality and cryopreservation of  
731 Brazilian freshwater fish species: a review. **Fish Physiology and Biochemistry**,  
732 35, 137-150, 2009.
- 733 WEINGARTNER, M. **Aperfeiçoamento das técnicas de fertilização de**  
734 **ovócitos de Dourado, *Salminus brasiliensis* Cuvier, 1816 (Characiformes:**

- 735 **Characidae), utilizando sêmen fresco e congelado durante o processo de**  
736 **reprodução induzida.** Florianópolis: UFSC, 2010. 81p. Tese  
737 (Doutorado\_CCA\_PG\_AQI). 2010.
- 738 WEINGARTNER, M; FRACALOSI, D.M; BEUX, L.F. et al. Desenvolvimento  
739 de tecnologia de cultivo para peixes nativos do Alto Rio Uruguai. in: ZANIBONI-  
740 FILHO, E.; NUÑER, A.P.O. (Ed): **Reservatório de Itá: Estudos Ambientais,**  
741 **Desenvolvimento de Tecnologia de Cultivo e Conservação da Ictiofauna.**  
742 Editora UFSC, Florianópolis, SC , 2008. p 257 a 306.
- 743 WELCOMME, R.L. **River fisheries.** FAO Fish. Tech. Pap. v.262, 1985, 330 p.
- 744 WILSON-LEEDY, J.G.; INGERMANN, R.L. Development of a novel CASA  
745 system based on open source software for characterization of zebrafish sperm  
746 motility parameters. **Theriogenology**, v.67, p.661–672, 2007.
- 747 WOJTCZAK, M.; DIETRICH, G.J.; CIERESZKO, A. Transferrin and  
748 antiproteinases are major proteins of common carp seminal plasma. **Fish and**  
749 **Shellfish Immunology**, v.19, p.387-391, 2005.
- 750 ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O. Reprodução de peixes migradores de  
751 água doce. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSI, D.M.;  
752 CASTAGNOLLI, N.(Ed.) **Tópicos especiais em piscicultura de água doce**  
753 **tropical intensiva.** São Paulo: TecArt, 2004. p.45–74.
- 754 ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O. **Reservatório de Itá: Estudos**  
755 **Ambientais, Desenvolvimento de Tecnologia de Cultivo e Conservação da**  
756 **Ictiofauna.** Editora UFSC, Florianópolis, SC , 2008.
- 757 ZANIBONI-FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da  
758 reprodução de peixes migradores. **Revista Brasileira de Reprodução Animal,**  
759 v.31, n.3, p.367-373, 2007.
- 760

761 **5. APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS**

762

763 Visando facilitar a publicação dos resultados obtidos, após a  
764 incorporação das sugestões que serão feitas pela banca, foram elaborados dois  
765 artigos científicos seguindo as normas de publicação das revistas a que serão  
766 submetidos, sendo aqui apresentados na forma de capítulos.

767

768 Capítulo I:

769 **Produção espermática de *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1876)**

770 **e o efeito da indução hormonal ao longo de um ciclo reprodutivo**

771 International Journal - *Aquaculture*, Elsevier, Amsterdam

772

773 Capítulo II:

774 **Correlações entre parâmetros quali-quantitativos do sêmen fresco de**

775 ***Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1876)**

776 *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG

777

778

779

780

781

782

783

784

785

786

787

788

**CAPITULO I:**

789

**PRODUÇÃO ESPERMÁTICA DE *Steindachneridion parahybae***

790

**(STEINDACHNER, 1876) E O EFEITO DA INDUÇÃO HORMONAL AO LONGO**

791

**DE UM CICLO REPRODUTIVO**

792

International Journal - *Aquaculture*, Elsevier, Amsterdam

793



794 **Produção espermática de *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1876) e o efeito**  
795 **da indução hormonal ao longo de um ciclo reprodutivo**

796

797 Danilo Caneppele<sup>a,b</sup>, Eduardo Antônio Sanches<sup>c</sup>, Elizabeth Romagosa<sup>d</sup>

798

799 <sup>a</sup>Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna, CESP - Rod. dos Tamoios Km 38,  
800 Bairro Rio Claro, Paraibuna, SP, BR. CP 66 - [danilo.caneppele@cesp.com.br](mailto:danilo.caneppele@cesp.com.br)

801 <sup>b</sup>Programa de Pós Graduação em Aquicultura Instituto de Pesca – APTA, SAA, São Paulo, SP,  
802 BR.

803 <sup>c</sup>Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, SP, BR

804 <sup>d</sup>Instituto de Pesca – APTA, SAA, São Paulo, SP, BR.

805

806 **Resumo**

807 *Steindachneridion parahybae* é um bagre, endêmico da bacia do rio Paraíba do Sul e com  
808 biologia pouco conhecida. Sua pesca já foi importante na década de 50, porém, com a  
809 degradação da bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul, a espécie hoje está criticamente  
810 ameaçada de extinção. Com o objetivo de se aproveitar ao máximo a produção de sêmen  
811 dos escassos machos selvagens da espécie nos processos de reprodução artificial,  
812 fortalecendo assim o desenvolvimento de programas de conservação *ex situ*, o presente  
813 estudo avaliou a produção e as características seminais de *S. parahybae* mantidos em  
814 cativeiro, ao longo de um ciclo reprodutivo e o efeito da indução com Extrato de Pituitária  
815 de Carpa (EPC). Para tanto, entre os meses de outubro de 2009 a abril de 2010, foram  
816 realizadas 06 coletas de sêmen obtidas de 26 exemplares, divididos em dois tratamentos  
817 (não induzidos e induzidos). O efeito da indução hormonal nos parâmetros seminais  
818 avaliados não foi significativo ( $P > 0,05$ ), tendo sido obtidas as seguintes médias e erros  
819 padrões para os tratamentos respectivamente: volume relativo de sêmen ( $9,39 \pm 1,19$  e  $9,87$   
820  $\pm 1,03$  mL kg<sup>-1</sup>); taxa de motilidade espermática ( $79,05 \pm 1,85$  e  $81,77 \pm 1,54\%$ ); tempo de  
821 motilidade ( $38,76 \pm 0,74$  e  $39,94 \pm 0,80$  s); concentração espermática ( $9,24 \pm 0,88$  e  $8,75 \pm$   
822  $0,58 \times 10^9$  spz mL<sup>-1</sup>); pH do plasma seminal ( $7,23 \pm 0,06$  e  $7,32 \pm 0,05$ ) e osmolaridade do  
823 plasma seminal ( $263,21 \pm 2,40$  e  $259,46 \pm 3,54$  mOSM kg<sup>-1</sup>). Os resultados obtidos  
824 indicaram que a espécie possui produção espermática contínua, porém, variável durante o  
825 período avaliado, e que a indução hormonal não proporciona melhoras significativas nas  
826 características seminais da espécie.

827

828 **Palavras Chave:** Sêmen, reprodução induzida, surubim do Paraíba, variação temporal.

829 **Abstract**

830 *Steindachneridion parahybae* is a catfish, endemic to the Paraíba do Sul river basin and  
831 with little known biology. It used to be important to fishing in the 50s, but with the  
832 degradation of the Paraíba do Sul river basin, the species is currently critically threatened  
833 with extinction. In order to make the most of the semen production of the scarce wild  
834 males of this species in the process of artificial reproduction, supporting the development  
835 of conservation programs *ex situ*, the present study assessed the production and the semen  
836 characteristics of *S. parahybae* kept in captivity over one reproductive cycle and the effect  
837 of the induction with Carp Pituitary Extract (CPE). Thus, 06 samples of semen were  
838 collected between October 2009 and April 2010 from 26 units divided into two treatments  
839 (non-induced and induced). The effect of hormonal induction on the seminal parameters  
840 studied was not significant ( $P>0.05$ ). The following mean values and standard deviations  
841 were obtained for the treatments, respectively: relative volume of semen ( $9.39 \pm 1.19$  and  
842  $9.87 \pm 1.03 \text{ mL kg}^{-1}$ ); sperm motility rate ( $79.05 \pm 1.85$  and  $81.77 \pm 1.54\%$ ); motility time  
843 ( $38.76 \pm 0.74$  and  $39.94 \pm 0.80 \text{ s}$ ); sperm concentration ( $9.24 \pm 0.88$  and  $8.75 \pm 0.58 \times 10^9$   
844  $\text{sptz mL}^{-1}$ ); pH of the seminal plasma ( $7.23 \pm 0.06$  and  $7.32 \pm 0.05$ ) and osmolarity of the  
845 seminal plasma ( $263.21 \pm 2.40$  and  $259.46 \pm 3.54 \text{ mOSM kg}^{-1}$ ). The results obtained  
846 indicated that this species presents continuous sperm production, but variable during the  
847 period studied, and that the hormonal induction does not provide a significant  
848 improvement in the semen characteristics of the species.

849

850 **Key Words:** Semen, induced reproduction, surubim do Paraíba, temporal variation.

851

852 **Introdução**

853 *Steindachneridion parahybae* é um bagre, comumente denominado surubim do  
854 Paraíba que pode ultrapassar 60 centímetros de comprimento padrão (Oliveira e Moraes,  
855 1997). Endêmico da bacia do rio Paraíba do Sul e com biologia pouco conhecida (Honji et  
856 al., 2009), possui características de espécie migratória ocorrendo em águas correntosas que  
857 fluem sobre o leito rochoso (Garavello, 2005).

858 Entre os anos de 1950 e 1951 foi relatada a captura de *S. parahybae* em 10  
859 municípios da porção paulista da bacia o que totalizou 1989 Kg (Machado e Abreu, 1952),

860 porém atualmente não existem registros comprovados da sua captura no estado de São  
861 Paulo (MMA, 2008).

862 A bacia hidrográfica do rio Paraíba do Sul, localizada no eixo principal de  
863 desenvolvimento do Brasil, sofre com a degradação ambiental, desde os ciclos  
864 agropecuários (café, gado e silvicultura), passando pela industrialização, urbanização,  
865 exploração de areia e barramentos hidroelétricos (Hilsdorf e Petrere, 2002). O processo  
866 desordenado de ocupação do Vale do Paraíba somado a outras atitudes equivocadas como  
867 a introdução do dourado, *Salminus brasiliensis*, espécie alóctone e de alto nível trófico,  
868 introduzido em 1946 (Machado e Abreu, 1952) contribuíram para a redução de populações  
869 nativas de peixes (Caneppele, 2007).

870 Este contexto explica em parte a situação atual de *S. parahybae*, que dentre as nove  
871 espécies de peixes ameaçadas na bacia do rio Paraíba do Sul, é a que apresenta a situação  
872 mais crítica (MMA, 2008), sendo considerada regionalmente extinta no estado de São  
873 Paulo, de acordo com o livro da Fauna Ameaçada de Extinção no Estado de São Paulo:  
874 Vertebrados (SMA, 2009).

875 Ações desenvolvidas para a conservação da ictiofauna local devem envolver, dentre  
876 outras, a reestruturação de habitats, o conhecimento biológico da espécie e a distribuição  
877 genética de suas populações na bacia. Além disso, para programas de conservação *ex situ*,  
878 visando à produção de alevinos de qualidade para a introdução na natureza, o controle do  
879 processo reprodutivo é fundamental.

880 Romagosa (2006) define como um dos principais aspectos para a intensificação da  
881 produção piscícola, acompanhada da sustentabilidade tanto econômica como ambiental, a  
882 utilização da propagação artificial ou reprodução induzida. Nesse sentido, para a promoção  
883 da máxima fertilização e, subsequentemente, desenvolvimento normal do embrião devem  
884 ser utilizados gametas masculinos e femininos de qualidade (Bobe e Labbé, 2010). A

885 qualidade dos espermatozoides pode ser avaliada por meio de características que devem  
886 estar relacionadas às taxas de fertilização (Fogli da Silveira et al., 1988; Billard et al.,  
887 1995; Tuset et al., 2008; Galo, 2009), sendo os parâmetros relacionados à motilidade  
888 comumente utilizados na determinação da viabilidade espermática (Billard e Cosson, 1992;  
889 Rurangwa et al., 2004).

890 As estações de aquicultura normalmente utilizam seus reprodutores masculinos  
891 apenas uma vez por ciclo, estimulando-os através de terapias hormonais, utilizando  
892 diferentes hormônios e dosagens, porém, geralmente sem a avaliação sistemática dos seus  
893 efeitos. Kavamoto et al. (1997) estudando *Prochilodus scrofa*, ressaltaram que para a  
894 utilização racional de machos mantidos em cativeiro e destinados à reprodução induzida, é  
895 imprescindível o conhecimento da capacidade de produção do material fecundante desses  
896 exemplares durante o período reprodutivo.

897 Considerando-se o estado de conservação do *S. parahybae* na natureza e o reduzido  
898 número de exemplares selvagens disponíveis para a manipulação reprodutiva em cativeiro,  
899 a possibilidade de utilização do sêmem de um mesmo reprodutor mais de uma vez, em um  
900 único ciclo reprodutivo, abre uma nova perspectiva de produção seminal destinada à  
901 conservação de material genético de alta variabilidade.

902 Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a produção e as características  
903 espermáticas de *S. parahybae*, mantidos em cativeiro, e o efeito da indução hormonal ao  
904 longo de um ciclo reprodutivo.

## 905 **Material e Métodos**

906 O experimento foi conduzido entre os meses de outubro de 2009 e abril de 2010, na  
907 Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna, pertencente à Companhia Energética  
908 de São Paulo – CESP, localizada no município de Paraibuna – SP/BR.

909 Para o início do estudo foram selecionados 26 exemplares machos, considerados  
910 maduros diante da constatação da liberação de sêmen após leve pressão da cavidade  
911 abdominal. Os exemplares de *S. parahybae* selecionados faziam parte de um lote  
912 produzido a partir de reprodutores selvagens em dezembro de 2003 (Caneppele et al.,  
913 2009).

914 Os exemplares selecionados foram pesados individualmente, marcados  
915 eletronicamente e divididos em dois tratamentos, sendo manipulados de acordo com os  
916 princípios éticos estabelecidos por Van Zetphen et al. (2001). No tratamento um 13  
917 machos ( $542,3 \pm 39,3$  g) não foram submetidos à indução hormonal, tendo sido realizada  
918 somente a coleta de sêmen, através de massagem na cavidade abdominal do peixe no  
919 sentido encéfalo-caudal, em tubos de ensaio graduados (0,1 mL). No tratamento dois os  
920 outros 13 machos ( $522,3 \pm 33,6$  g) foram submetidos à indução hormonal com Extrato de  
921 Pituitária de Carpa (EPC -  $3,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ), com o sêmen coletado da mesma forma, após um  
922 intervalo de 180 unidades térmicas acumuladas (UTA). Os exemplares submetidos aos  
923 diferentes tratamentos foram confinados em dois tanques de alvenaria de  $10 \text{ m}^3$  ( $2 \times 5 \times 1 \text{ m}$ ),  
924 separadamente.

925 Durante o período do experimento foram realizadas seis coletas de sêmen em cada  
926 tratamento (totalizando 156 amostras), com intervalos que variaram de 26 a 49 dias, não  
927 tendo ocorrido coleta em dezembro de 2009. Durante as coletas foram verificadas as  
928 numerações eletrônicas e repetidas as pesagens individuais.

929 Os valores de pH, oxigênio dissolvido ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e temperatura da água ( $^{\circ}\text{C}$ ) foram  
930 registrados três vezes por semana nos tanques, durante o período do experimento, com a  
931 utilização de um Multianalizador (Horiba U50).

932 O volume de sêmen coletado (mL) foi medido por observação direta nos tubos de  
933 ensaios graduados e o volume relativo ( $\text{mL kg}^{-1}$ ), calculado posteriormente, em função dos

934 pesos dos exemplares registrados nas coletas. Cada amostra foi mantida em caixas de  
935 isopor contendo gelo (Marques e Godinho, 2004).

936 Antes do início das análises, as amostras foram avaliadas em relação à pré-ativação  
937 sendo as amostras contaminadas por urina, sangue ou água descartadas (Tiersch e Green,  
938 2011).

939 A motilidade espermática (%) foi obtida por meio de análise subjetiva dos  
940 movimentos progressivos em intervalos de incremento de 5 em 5%. O tempo de duração  
941 da motilidade (s) foi realizado considerando-se quando 50% dos espermatozóides pararam  
942 de se movimentar (Sanches et al., 2009; Romagosa et al., 2010). Para a mensuração foram  
943 utilizados 5 µL de sêmen, diluídos em 200 µL de solução ativadora (água dos tanques),  
944 obtendo uma diluição sêmen:água de 0,025, sendo utilizados 5 µL da solução resultante  
945 para a avaliação em um microscópio de luz ZEISS – Jenamed 2 - Germany (200 x), e para  
946 cada amostra de sêmen foram três repetições (Sanches et al., 2009).

947 Para a mensuração da concentração espermática (sptz mL<sup>-1</sup>), 10 µL de sêmen de cada  
948 amostra foram adicionados a 3000 µL de formol salino tamponado, resultando em uma  
949 diluição de 1:300. A contagem de células espermáticas foi realizada em câmara  
950 hematimétrica de Neubauer (400x) (Wirtz e Steinmann, 2006; Sanches et al., 2009).

951 Amostras de sêmen com volumes acima de 1,5 mL foram submetidas a centrifugação  
952 por 30 minutos a 50 hertz em centrífuga Fanem 204 NR, para obtenção do plasma seminal,  
953 que foi armazenado em criotubos e congelado em nitrogênio líquido. O pH e a  
954 osmolaridade destas amostras foram posteriormente mensuradas no Laboratório de  
955 Tecnologia de Sêmen - Universidade Federal de Lavras – UFLA, MG com auxílio de um  
956 pHmetro Digimed DM22 e Osmômetro Semimicro osmometer K 7400 Knauer.

957 Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância dos efeitos principais  
958 (*main effects ANOVA*) ao nível de 5% de significância. Em caso de efeito, foi aplicado o

959 teste de comparação de médias de Duncan ao mesmo nível. Os pressupostos foram  
960 avaliados conforme [Quinn e Keough \(2002\)](#). O *software* utilizado para as análises foi o  
961 Statistica 7.0<sup>®</sup> (Statsoft, 2005).

## 962 **Resultados e Discussão**

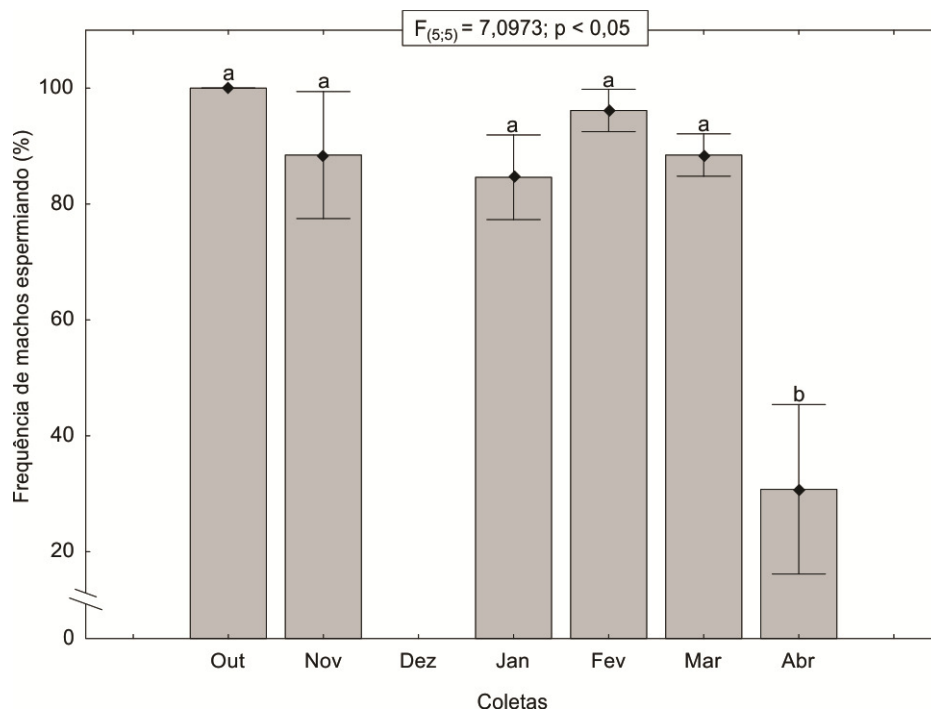
963 Os valores médios e os desvios padrões dos parâmetros limnológicos registrados  
964 durante o período do experimento nos tanques dos tratamentos foram: pH =  $7,23 \pm 0,59$  e  
965  $7,26 \pm 0,57$ ; oxigênio dissolvido =  $7,33 \pm 0,69$  e  $7,65 \pm 0,72$  mg L<sup>-1</sup>; temperatura da água =  
966  $21,85 \pm 0,77$  e  $21,85 \pm 0,80$  °C, respectivamente, não sendo verificadas diferenças  
967 estatisticamente significativas (P<0,05), mantendo-se dentro dos limites estabelecidos para  
968 a aqüicultura ([CONAMA, 2005](#)).

969 Foi constatada a espermiacão do *S. parahybae* durante o período avaliado nas  
970 condições de confinamento da Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna.  
971 Entretanto uma redução significativa (P<0,05) no número de peixes espermiando foi  
972 observada no mês de abril (Figura 01). Entre os meses de outubro de 2009 e março de  
973 2010, o percentual de peixes que liberaram sêmen foi de  $91,54 \pm 2,91\%$ , sendo que em  
974 abril apenas  $30,77 \pm 13,38\%$  espermiaram, indicando o final do período reprodutivo para a  
975 espécie. A frequência de exemplares espermiando não diferiu (P>0,05) entre os  
976 tratamentos não induzidos e induzidos (Tabela 01).

977 [Kavamoto et al. \(1997\)](#) registraram a espermiacão de *P. scrofa* entre os meses de  
978 outubro a dezembro, tendo sido os exemplares submetidos a cinco coletas em intervalos de  
979 14 dias e com temperatura média de 25 °C. Os autores observaram que machos dessa  
980 espécie podem ser utilizados até três vezes no mesmo ciclo reprodutivo, sem a perda da  
981 qualidade espermática.

982 A amplitude do período de espermiacão verificada para *S. parahybae* no presente  
983 estudo (Figura 01), pode estar relacionada com a estratégia reprodutiva da espécie ou com

984 as médias de temperatura da água registradas durante o experimento. Essa hipótese é  
985 corroborada por [Zaniboni-Filho et al. \(2010\)](#), que, ao comparar duas localidades de cultivo  
986 de *Steindachneridion inscriptum*, verificaram que em regiões mais quentes o período  
987 reprodutivo é antecipado e, aparentemente, mais curto, sendo fortemente influenciado pela  
988 variação das médias de temperatura da água. Entretanto, sendo *S. parahybae* uma espécie  
989 ainda pouco conhecida, existe a necessidade de comparações entre criações localizados em  
990 diferentes regiões, a fim de se verificar a influência da temperatura na determinação do seu  
991 período de espermição.



992

993 **Figura 01:** Variações da porcentagem de *S. parahybae* espermiando, observadas de outubro/2009 a  
994 abril/2010. Valores em média  $\pm$  erro padrão. Letras diferentes indicam  $p < 0,05$ .

995 A Tabela 01 mostra que os parâmetros seminais avaliados não apresentaram  
996 diferenças estatisticamente significativas ( $P > 0,05$ ), entre os dois tratamentos, sendo a  
997 variação temporal avaliada de forma conjunta.

998 [Kavamoto et al. \(1996\)](#) constataram efeitos altamente significativos ( $P < 0,01$ ) da  
999 indução hormonal com Hormônio da Gonadotrofina Coriônica humana - HGC no volume  
1000 de sêmen e na concentração espermática do *P. scrofa*, quando comparadas às coletas



1001 realizadas antes da estimulação hormonal. [Bombardelli et al. \(2006\)](#) através da indução  
 1002 hormonal com EPC em *Rhandia quelen*, obtiveram volume de sêmen superior ( $5,9 \pm 0,54$   
 1003 mL) em comparação aos observados por [Ferreira et al. \(2001\)](#) e [Kavamoto e Fogli da](#)  
 1004 [Silveira \(1986\)](#), que registraram 0,41 mL em *R. quelen* e 0,8 mL em *R. hilarii*,  
 1005 respectivamente, em exemplares coletados no ambiente natural. [Streit Jr. et al. \(2006\)](#)  
 1006 avaliando o efeito da indução hormonal nas características qualitativas do sêmen de  
 1007 *Piaractus mesopotamicus* não verificaram efeitos significativos ( $P > 0,05$ ) do processo.

1008 **Tabela 1**

1009 Parâmetros seminais observados em *S. parahybae*, nos dois tratamentos, durante o período de outubro de  
 1010 2009 a abril de 2010.

Parâmetros	Não Induzidos		Induzidos		p
	Média $\pm$ EP	n	Média $\pm$ EP	n	
Frequência de machos espermiando (%)	80,77 $\pm$ 7,88	6	82,05 $\pm$ 13,57	6	0.8759
Volume de sêmen relativo (mL kg <sup>-1</sup> )	9,39 $\pm$ 1,19	76	9,87 $\pm$ 1,03	74	0.8257
Produção total de sêmen (mL)	28,93 $\pm$ 5,23	13	27,81 $\pm$ 3,50	13	0.8598
Concentração espermática ( $\times 10^9$ spztz mL <sup>-1</sup> )	9,24 $\pm$ 0,88	67	8,75 $\pm$ 0,58	67	0.6839
Taxa de motilidade (%)	79,05 $\pm$ 1,85	67	81,77 $\pm$ 1,54	67	0.2441
Tempo de motilidade (s)	38,76 $\pm$ 0,74	67	39,94 $\pm$ 0,80	67	0.1302
Osmolaridade do plasma seminal (mOSM kg <sup>-1</sup> )	263,21 $\pm$ 2,40	42	259,46 $\pm$ 3,54	49	0.3541
pH do plasma seminal	7,23 $\pm$ 0,06	42	7,32 $\pm$ 0,05	49	0.0543

1011 p: probabilidade obtida na análise de variância; Valores em média  $\pm$  erro padrão; n = número de observações.

1012 Deve-se destacar que, a realização da indução hormonal é praticada com intuito de  
 1013 garantir um maior volume de sêmen, facilitando sua manipulação em procedimentos de  
 1014 reprodução artificial ([Carneiro e Mikos, 2008](#); [Viveiro e Godinho, 2009](#)). Porém, para que  
 1015 o processo utilizado tenha sucesso, além das diferenças específicas, o incremento na  
 1016 produção espermática em peixes também depende do tipo de hormônio utilizado e dos  
 1017 intervalos necessários para a sua efetiva ação, sendo que outras formas de estimulação à  
 1018 espermição para *S. parahybae* devem ser investigadas.

1019 As variações temporais das médias dos volumes relativos de sêmen podem ser  
 1020 verificadas na Figura 02A. Na primeira coleta (out/09) foram registrados os maiores

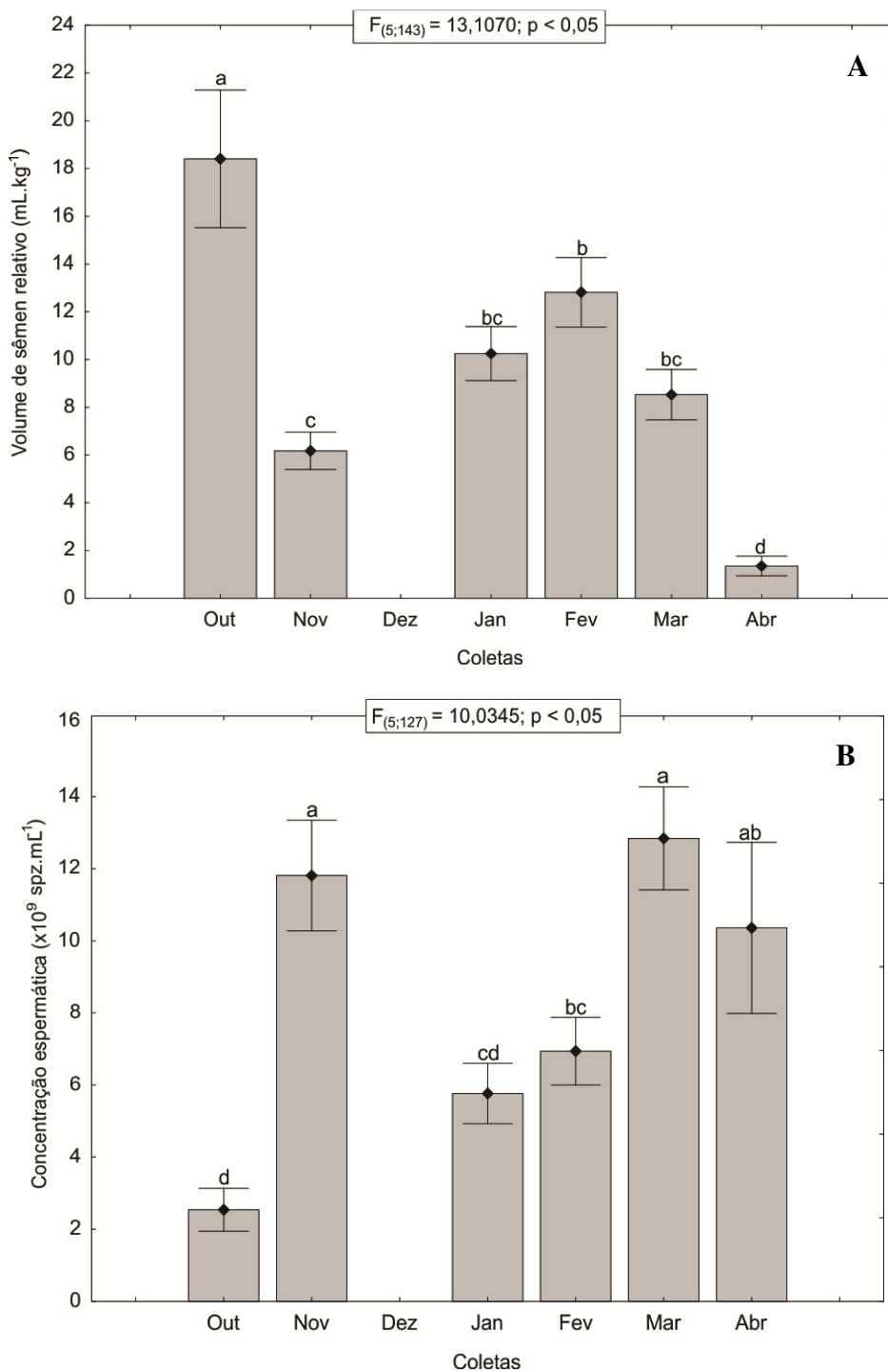
1021 valores, ocorrendo uma queda acentuada (nov/09), recuperando sua capacidade de  
1022 espermição (fev/10), seguida de um período de declínio (mar e abr/10), indicando redução  
1023 na produção espermática, o que corrobora em parte com informações preliminares do  
1024 período reprodutivo da espécie de novembro a março (Caneppele et al., 2009). A variação  
1025 do volume relativo de sêmen observada entre as duas primeiras coletas provavelmente está  
1026 relacionada ao tempo de adaptação dos exemplares às condições experimentais.

1027 Volumes relativos de sêmen obtidos por Luz et al. (2001) em *S. inscriptum* variaram  
1028 de 1,60 a 9,09 mL kg<sup>-1</sup>, sendo este variável e dependente do tamanho do exemplar, época e  
1029 metodologia de coleta. Em relação ao tamanho, para *S. parahybae*, não foi verificada  
1030 correlação (P>0,05) entre o volume de sêmen coletado (mL) e seus respectivos pesos. Os  
1031 volumes somados por exemplar durante as seis coletas estiveram entre 8,2 a 67 mL, com  
1032 coeficiente de variação de 55,44%. Kavamoto et al. (1996) também verificaram  
1033 coeficientes de variação do volume de sêmen elevados (54,20%) estudando *P. scrofa*,  
1034 sugerindo a ocorrência de variações individuais na capacidade de produção sêmen.

1035 A concentração espermática é uma das medidas quantitativas utilizadas na pesquisa e  
1036 rotina para a avaliação do sêmen de animais de fecundação interna e externa, para  
1037 maximizar o aproveitamento do material fecundante e para ter melhores resultados na  
1038 fertilização (Fogli da Silveira et al., 1990).

1039 Os valores observados de concentração espermática de *S. parahybae* variaram  
1040 conforme apresentado na Figura 2B, e foram inferiores aos registrados por Luz et al.  
1041 (2001) em *S. inscriptum* que variaram de 19,50 a 120,15 x 10<sup>9</sup> spz mL<sup>-1</sup>. Estudos com  
1042 *Rhamdia quelen* também apontaram médias superiores 50,00 ± 12,00 x 10<sup>9</sup> a 66,00 ± 36,00  
1043 x 10<sup>9</sup> spz mL<sup>-1</sup> (Borges et al., 2005), 55,80 ± 5,69 x 10<sup>9</sup> spz mL<sup>-1</sup> (Fogli da Silveira et al.,  
1044 1985) e 19,70 x 10<sup>9</sup> spz mL<sup>-1</sup> (Bombardelli et al., 2006). No entanto, os parâmetros  
1045 quantitativos para avaliação espermática são influenciados por diversos fatores como, a

1046 idade dos reprodutores (Bastardo et al., 2004), coletas seminais sucessivas (Kavamoto et  
1047 al., 1997), indução hormonal (Kavamoto e Fogli da Silveira, 1986), hormônios aplicados  
1048 durante o processo de indução hormonal (Streit Jr. et al., 2003; Bombardelli et al., 2006),  
1049 época do ano (Borges et al., 2005) e metodologia de coleta (Ferreira et al., 2001).

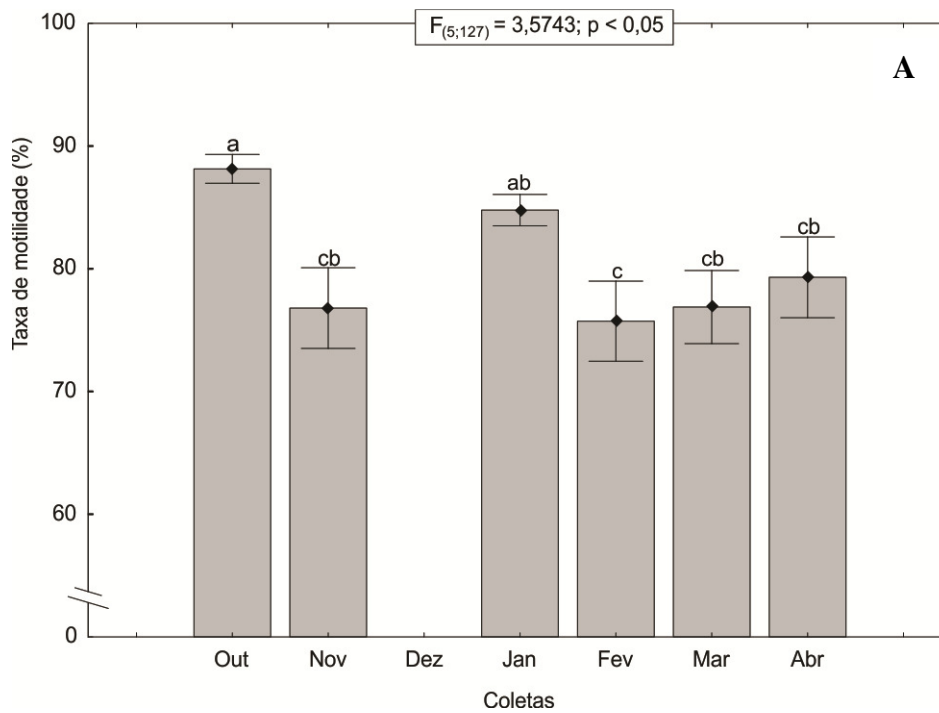


1050

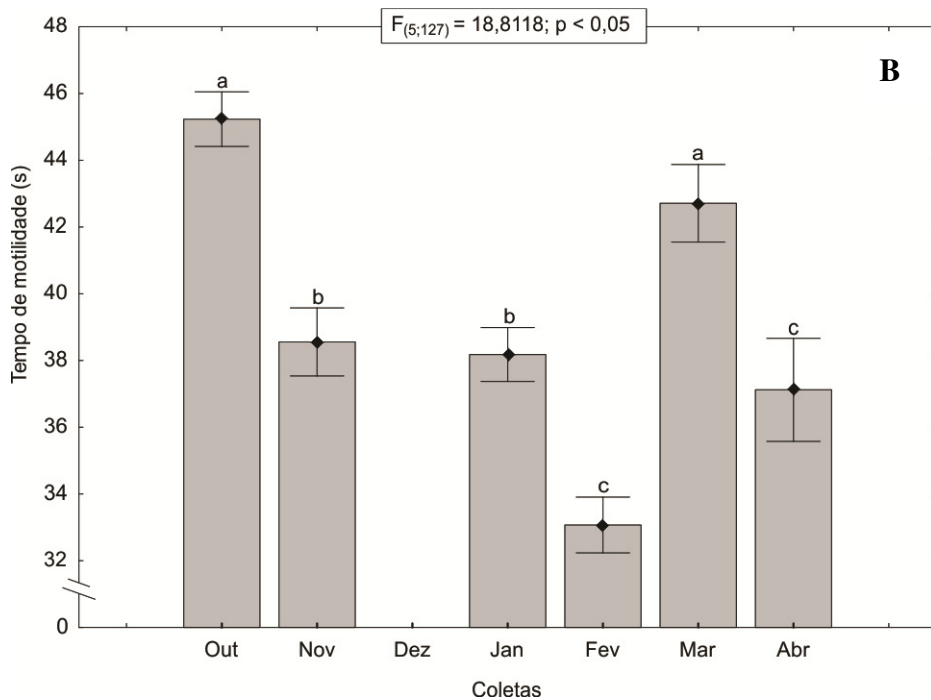
1051

1052 **Figura 2:** Variações de volume de sêmen relativo (A) e concentração espermática (B) do *S. parahybae*,  
1053 observadas de outubro/2009 a abril/2010. Valores em média ± erro padrão. Letras diferentes indicam  $p < 0,05$ .

1054 Na Figura 3A e 3B são observadas variações significativas ( $P < 0,05$ ) nas taxas de  
1055 motilidade e duração do tempo de motilidade entre as coletas.



1056



1057

1058 **Figura 3:** Variações da taxa de motilidade (A) e tempo de motilidade (B) do *S. parahybae*, observadas de  
1059 outubro/2009 a abril/2010. Valores em média  $\pm$  erro padrão. Letras diferentes indicam  $p < 0,05$ .

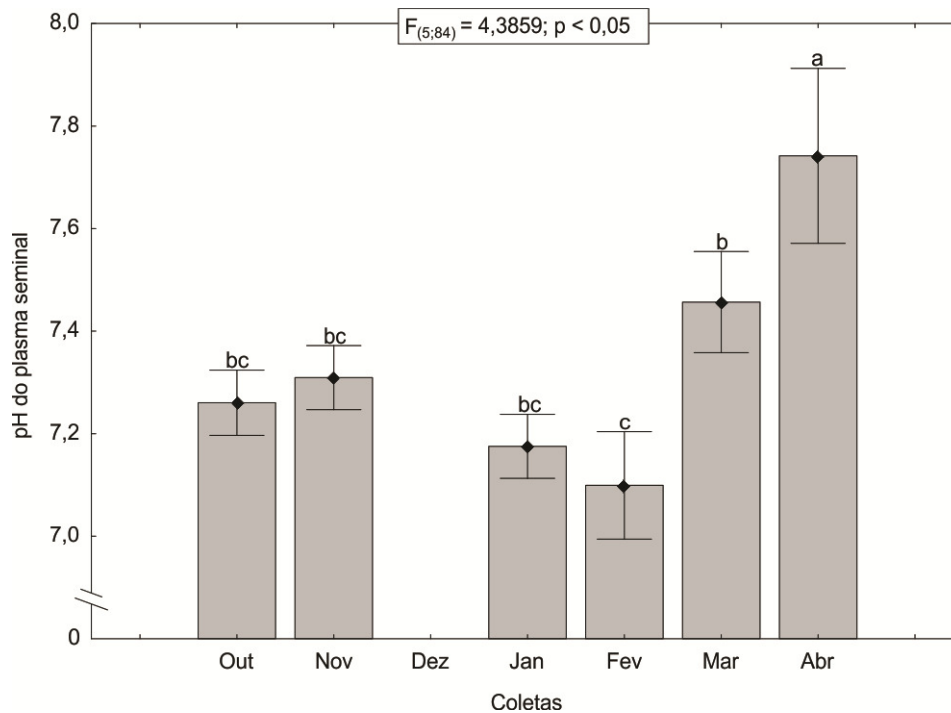
1060 As médias das taxas de motilidade obtidas para *S. parahybae* atingiram, na primeira

1061 e terceira coletas (Figura 3A), valores próximos aos registradas para *Rhamdia quelen*, 88,3

1062  $\pm 2,9\%$  (Ferreira et al., 2001) e  $81,90 \pm 9,67\%$  (Kavamoto e Fogli da Silveira, 1986),  
1063 porém, no restante das coletas se mantiveram abaixo dos 80%. Em relação ao tempo de  
1064 ativação (Figura 3B), considerando-se o momento quando 50% dos espermatozóides  
1065 perdem sua motilidade (Sanches et al., 2009; Romagosa et al., 2010), os valores se  
1066 apresentaram superiores aos encontrados para *Rhamdia quelen*, de  $23,9 \pm 2,7$  a  $26,2 \pm 3,4$  s  
1067 (Hilbig et al., 2008) e  $21,86 \pm 1,33$  s (Witeck et al., 2011). Luz et al. (2001) avaliando o  
1068 sêmen de *S. inscriptum*, obtiveram tempos de motilidade variando entre 37 e 75 s, porém  
1069 consideraram os momentos em que os espermatozóides cessavam totalmente seus  
1070 movimentos.

1071 Na Figura 4 pode-se constatar que não ocorreram diferenças significativas ( $P>0,05$ )  
1072 nos valores médios de pH do plasma seminal do *S. parahybae* nas quatro primeiras coletas.  
1073 Somente a partir da quinta coleta foram identificadas diferenças ( $P<0,05$ ), com o aumento  
1074 gradativo desses valores no final do período de espermição. Em *R. quelen* foram  
1075 observados valores de pH de 8,0 e  $8,0 \pm 0,3$ , respectivamente (Mojica, 2004; Borges et al.,  
1076 2005). Orfão et al. (2011) avaliaram sêmen fresco de *Brycon opalinus*, criados na mesma  
1077 localidade do presente estudo, registrando valores médios de  $8,3 \pm 0,1$ .

1078 Os espermatozóides dos teleósteos de água doce permanecem imóveis em soluções  
1079 com ou sem eletrólitos, quando a osmolaridade é isotônica ao plasma seminal. Entretanto,  
1080 quando o sêmen de espécies de água doce encontra-se diluído em uma solução  
1081 hiposmótica, os espermatozóides iniciam sua motilidade (Morisawa, 1994). Em teleósteos,  
1082 as osmolaridades variam em torno de 300 a 350 mOsm.kg<sup>-1</sup> em espécies de água doce  
1083 (Morisawa e Susuki,1980) e de 249 a 414 mOsm.kg<sup>-1</sup> em espécies marinhas, podendo  
1084 variar em função da família, da espécie e das condições em que se encontram (Alavi e  
1085 Cosson, 2006).



1086

1087 **Figura 4:** Variações do pH do plasma seminal do *S. parahybae*, observadas de outubro/2009 a  
 1088 abril/2010. Valores em média ± erro padrão. Letras diferentes indicam  $p < 0,05$ .

1089

1090

1091

1092

1093

1094

1095

1096

As médias de osmolaridade do plasma seminal de *S. parahybae* não apresentaram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) nas seis coletas deste estudo, com valores de  $261,18 \pm 2,20$  mOSM  $\text{kg}^{-1}$ . Para *R. quelen*, Mojica (2004) registrou valores médios de  $300,66$  mOsm  $\text{kg}^{-1}$ . Na mesma espécie Borges et al. (2005) não verificaram diferenças de osmolaridade entre o verão e o inverno obtendo médias de  $274 \pm 11,20$  mOSM  $\text{kg}^{-1}$ . Em *Brycon opalinus* Orfão et al. (2011) obtiveram médias de  $318$  mOsm. $\text{kg}^{-1}$ , valores estes semelhantes aos observadas em sêmen fresco de outros peixes de água doce (Viveiros e Godinho, 2009).

1097

1098

1099

1100

1101

Os valores de osmolaridade e as variações de pH do plasma seminal, registrados durante o período de espermição de *S. parahybae* devem contribuir no desenvolvimento de soluções visando o armazenamento a curto prazo ou a criopreservação do material fecundante, tendo em vista a necessidade do equilíbrio do pH e a isotonicidade das mesmas.

1102 O conhecimento inédito aqui apresentado sobre a produção e características  
1103 esperáticas do *S. parahybae* contribuirá para o manejo reprodutivo em cativeiro desta  
1104 espécie, criticamente ameaçada, visando a sua conservação.

#### 1105 **Conclusões**

1106 Os machos de surubim do Paraíba, nas condições desse experimento, apresentaram  
1107 produção esperática contínua, porém, variável entre os meses de outubro a abril, sendo  
1108 que exemplares podem ser utilizados até seis vezes durante um mesmo ciclo reprodutivo.

1109 A indução hormonal, utilizada neste estudo, não proporcionou melhoras  
1110 significativas na capacidade de produção e nas características seminais, sendo  
1111 desnecessária nos trabalhos rotineiros de produção da espécie.

#### 1112 **Agradecimentos**

1113 Somos gratos à CESP/ANEEL P&D (0061-017/2006); CNPq (478347/2009-0). Aos  
1114 funcionários da Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna – CESP e a Equipe  
1115 do Laboratório de Tecnologia de Sêmen - Universidade Federal de Lavras – UFLA, MG,  
1116 pela realização das análises de pH e osmolaridade do plasma seminal.

#### 1117 **Referências**

1118

1119 Alavi, S.M.H., Cosson, J., 2006. Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: a  
1120 review. Cell Biology International, London. 30, 1-14.

1121 Bastardo, H., Guedez C., Leon M., 2004. Características del semen de trucha arco-iris de diferentes  
1122 edades, bajo condiciones de cultivo em Mérida, Venezuela. Zootecnia Tropical. 22 (3), 277-288.

1123 Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., Suquet, M., 1995. Broodstock management and seed quality-  
1124 General considerations. In: Bromage, N., Roberts, R. J. (Ed.). Broodstock management and egg  
1125 larval quality. Oxford: Blackwell Science, pp. 1-24.

1126 Billard, R., Cosson, M. P., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in  
1127 freshwater fish. The Journal of Experimental Zoology, 261, 122-131.

1128 Bobe, J., Labbé, C., 2010. Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology.  
1129 165, 535-548.

1130 Bombardelli, R.A., Mörschbacher, E.F., Campagnolo, R., Sanches, E.A., Syperreck, M.A., 2006.  
1131 Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy &  
1132 Gaimard, 1824). Revista Brasileira de Zootecnia, 35 (4), 1251-1257.

1133 Borges A., Siqueira D.R., Jurinitz D.F., Zanini R., Grillo A.F., Lacerda M., Oberst E.R. e  
1134 Wassermann G.F., 2005. Biochemical composition of seminal plasma and annual variations in

- 1135 sêmen characteristics of jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pimelodidae). Fish  
1136 Physiology and Biochemistry 31, 45–53
- 1137 Caneppele, D., 2007. Peixes. Capítulo 4. in: A Biologia e a Geografia do Vale do Paraíba: Trecho  
1138 Paulista. Ferreira, P. C. (Coord.). São José dos Campos: IEPA – Instituto Ecológico de Proteção da  
1139 Natureza, pp. 91-103
- 1140 Caneppele, D., Honji, R.M., Hilsdorf, A.W.S., Moreira, R., 2009. Induced spawning of the  
1141 endangered neotropical species *Steindachneridion parahybae* (Siluriforme:Pimelodidae).  
1142 Neotropical Ichthyology, 7 (4), 759-762.
- 1143 Carneiro, P.F., Mikos, J.D., 2008. Gonadotrofina coriônica humana e hormônio liberador de  
1144 gonadotrofina como indutores da reprodução do jundiá. Acta Scientiarum, Animal Science, 30 (3),  
1145 345-350.
- 1146 CONAMA, 2005. Resolução nº357. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes  
1147 ambientais para o seu enquadramento. Conselho Nacional de Meio Ambiente. MMA.  
1148 <http://www.mma.gov.br/port/conama>
- 1149 Ferreira, A.A., Nunher, A.P.O., Luz, R.K., Tataje R.D.A., Esquivel J.R., Restrepo J.B., 2001.  
1150 Avaliação qualitativa e quantitativa do sêmen de jundiá, *Rhamdia quelen*. Boletim do Instituto de  
1151 Pesca, 27 (1), 57-60.
- 1152 Fogli da Silveira, W., Kavamoto, E.T., Narahara, M.Y., 1985. Avaliação da qualidade e  
1153 criopreservação em forma de “pellets” do sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840).  
1154 Boletim do Instituto de Pesca, 12 (4), 7-11.
- 1155 Fogli da Silveira, W., Kavamoto, E.T., Cestarolli, M.A., Godinho, H.M., Ramos, S.M., Silveira,  
1156 A.N., 1990. Avaliação espermática, preservação criogênica e fertilidade do sêmen do pacu,  
1157 *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), proveniente de reprodução induzida. Boletim do  
1158 Instituto de Pesca, 17, 1-13.
- 1159 Fogli da Silveira, W., Kavamoto, E.T., Rigolino, M.G., 1988. Fertilidade do sêmen de truta arco-  
1160 íris, *Salmo irideus* gibbons, em diferentes concentrações de espermatozoides por óvulo. Boletim do  
1161 Instituto de Pesca, São Paulo, 15 (1), 51-54.
- 1162 Galo, J.M., Streit Jr, D.P., Povh, J.A., Bauer L., Ribeiro, R.P., Yokoyama, M., Neumann E., 2009.  
1163 Sêmen de jundiá *Leiarius marmoratus* (Gill, 1870) resfriado sem adição de solução crioprotetora  
1164 46º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Maringá, PR, UEM.
- 1165 Garavello, J.C. 2005. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes: Pimelodidae).  
1166 Neotropical Ichthyology, 3 (4), 607- 623.
- 1167 Hilbig, C.C, Bombardelli, R.A.; Sanches, E.A., 2008. Efeito do chumbo sobre a fertilização  
1168 artificial e incubação de ovos de jundiá cinza (*Rhamdia quelen*). Acta Scientiarum. Animal  
1169 Sciences, 30 (2), 217-224.
- 1170 Hilsdorf, A.W.S., Petrere M., 2002. Conservação de peixes na bacia do rio Paraíba do Sul. Ciência  
1171 Hoje, 30, 62-65.
- 1172 Honji, R.M., Caneppele, D., Hilsdorf, A.W.S., Moreira R.G., 2009. Threatened fishes of the world:  
1173 *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) (Siluriformes: Pimelodidae). Environmental  
1174 Biology of Fishes, 85, 207–208.
- 1175 Kavamoto, E.T., Ferraz, E.M., Andrade-Talmelli, E.F., Mainardes-Pinto, C.S.R., Romagosa, E.,  
1176 Narahara, M.Y., Barnabe, V.H., Campos, B.E.S., 1996. Estimulação da espermiacção em  
1177 Curimatá *Prochilodus scrofa* (Steindachner) através da aplicação de HCG (OSTHEICHTHYES,  
1178 CHARACIFORMES, PROCHILODONTIDAE). Revista Brasileira de Zoologia, 13 (1), 27-38.
- 1179 Kavamoto , E.T., Fogli da Silveira, W., 1986. Características físicas, químicas e microscópicas do  
1180 sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) em condições de campo. Boletim do  
1181 Instituto de Pesca, 13, 95-100.



- 1182 Kavamoto, E.T., Mainardes-Pinto, C.S.R., Andrade Talmelli, E.F., Campos, B.E.S., 1997.  
1183 Produção espermática do curimatá *Prochilodus scrofa*. Steindachner, 1881, Boletim do Instituto  
1184 de Pesca, 24, 73-78.
- 1185 Luz, R.K., Ferreira, A.A., Reynalt-Tajate, D.A., Zaniboni-Filho, E., 2001. Avaliação qualitativa e  
1186 quantitativa do sêmen do suruvi, *Steindachneridion scripta* (pimelodidae). Boletim do Instituto de  
1187 Pesca, 27 (1), 39-42.
- 1188 Machado, C.E.M., Abreu H.C.F., 1952. Notas preliminares sobre a caça e a pesca no Estado de São  
1189 Paulo. A pesca no Vale do Paraíba. Boletim da Indústria Animal, 13: 145-160.
- 1190 Marques, S., Godinho, H.P., 2004. Short-term Cold Storage of Sperm from Six Neotropical  
1191 Characiformes Fishes. Brazilian Archives of Biology and Technology, 47 (5), 799-804.
- 1192 Mogica C.A.P., 2004. Análise ultraestrutural e avaliação do sêmen de peixes neotropicais, *Brycon*  
1193 *orbignyanus*, *Rhamdia quelen* e *Brycon hilarii* (Pisces, Teleostei). Dissertação de mestrado, Centro  
1194 de Aqüicultura da UNESP – CAUNESP, Jaboticabal, Brasil, 82 pp.
- 1195 MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA), 2008. Livro Vermelho da Fauna Ameaçada de  
1196 Extinção. Angelo Barbosa Monterio Machado, Gláucia Moreira Drummond, Adriano Pereira  
1197 Paglia (Eds). – 1.ed – Brasília, DF: MMA; Belo Horizonte, MG : Fundação Biodiversitas, 2008.  
1198 (2). 1420 p.
- 1199 Morisawa, M., 1994. Cell signalling mechanism for sperm motility. Zoological Science., 11, 647-  
1200 662.
- 1201 Morisawa, M., Suzuki, K., 1980. Osmolality and potassium ions: their roles in initiation of sperm  
1202 motility in teleosts. Science , 210, 114-115.
- 1203 Oliveira, J.C., Moraes Jr, D.F., 1997. Dados adicionais à descrição de *Steindachneridion*  
1204 *parahybae* (Steindachner, 1876) (Teleostei, Siluroidei, Pimelodidae). Boletim do Museu Nacional,  
1205 384, 1-11.
- 1206 Orfão, L.H., Nascimento, A.F., Corrêa, F.M., Cosson, J., Viveiros A.T.M., 2011. Extender  
1207 composition, osmolality and cryoprotectant effects on the motility of sperm in the Brazilian  
1208 endangered species *Brycon opalinus* (Characiformes). Aquaculture, 311, 241–247.
- 1209 Quinn, G.P., Keough, M.J., 2002. Experimental Design and Data Analysis for Biologists.  
1210 Cambridge University Press, New York. 537p.
- 1211 Romagosa, E., 2006. Biologia reprodutiva e fisiologia de peixes em confinamento: o cachara  
1212 *Pseudoplatystoma fasciatum* como modelo. In: Tópicos Especiais em Biologia Aquática e  
1213 Aqüicultura (ed. By J.E.P. Cyrino & E.C. Urbinati, orgs.) 108-116. Aquabio, Jaboticabal, SP.
- 1214 Romagosa, E., Souza, B.E., Sanches, E.A., Baggio, D.M., Bombardelli, R.A., 2010. Sperm motility  
1215 of *Prochilodus lineatus* in relation to dilution rate and temperature of the activating medium.  
1216 Journal Applied Ichthyology, 26: 678–681
- 1217 Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F., Nash, J.P., 2004. The measurement of sperm motility and  
1218 factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture, 234, 1–28.
- 1219 Sanches, E.A., Bombardelli, R.A., Baggio, D.M., Souza, B.E., 2009. Dose inseminante para  
1220 fertilização artificial de ovócitos de dourado. Revista Brasileira de Zootecnia, 38 (11), 2091-2098.
- 1221 SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE - SMA, 2009. Fauna Ameaçada De Extinção no Estado de  
1222 São Paulo: Vertebrados. Bressan P. M., Kierulff M. C. M., Sugieda A. M.. (coord) - São Paulo:  
1223 Fundação Parque Zoológico de São Paulo: SMA.
- 1224 Streit JR., D.P., Ribeiro, R.P., Moraes, G.V., Mendez, L.V., Gallo, J.M., Digmayer, M., Povh,  
1225 J.A., 2006. Características qualitativas do sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após indução  
1226 hormonal. Bioscience Journal, 22 (3): 119-125.
- 1227 Streit JR., D.P., Moraes, G.V., Ribeiro, R.P., Caçador, W.C., Sakaguti, E.S., Povh, J.A., Souza,  
1228 E.D., 2003. Estudo comparativo da indução hormonal da espermição em piavuçu (*Leporinus*

- 1229 *macrocephalus*) com extrato de hipófise de frango, coelho e carpa. Acta Scientiarum, Animal  
1230 Sciences, 25 (2), 261-266.
- 1231 Tiersch, T.R e Green, C.C., 2011. Cryopreservation in Aquatic Species. 2<sup>nd</sup> Edition. Word  
1232 Aquaculture Society. Baton Rouge, USA, 2011. 1003p
- 1233 Tuset, V.M., Dietrich, G.J., Wojczak, M., Slowinska, M., Monserrat, J., Cieresko, A., 2008.  
1234 Relationships between morphology, motility and fertilization capacity in rainbow trout  
1235 (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa. Journal Applied Ichthyology, 24, 393-397.
- 1236 Van Zutphen, L.F.M.; Baumans, V.; Beynen, A.C., 2001. Principles of Laboratory Animal Science  
1237 – A Contribution to the Humane Use and Care of Animals and to the Quality of Experimental  
1238 Results. Revised Edition, Elsevier, Amsterdam.428p.
- 1239 Viveiros, A.T.M. e Godinho, H.P., 2009. Sperm quality and cryopreservation of Brazilian  
1240 freshwater fish species: a review. Fish Physiology and Biochemistry, 35, 137-150.
- 1241 Wirtz, S. e Steinmann, P., 2006. Sperm characteristics in perch *Perca fluviatilis*. Journal of Fish  
1242 Biology, 68, 1896-1902.
- 1243 Witeck, L., Bombardelli R.A., Sanches E.A., Oliveira J.D.S., Baggio D.M., Souza B.E., 2011.  
1244 Motilidade espermática, fertilização dos ovócitos e eclosão dos ovos de jundiá em água  
1245 contaminada por cádmio. Revista Brasileira de Zootecnia, 40 (3), 477-481.
- 1246 Zaniboni-Filho, E., Tatage, R., Hermes-Silva, S., 2010. Cultivo de bagres do gênero  
1247 *Steindacneridion*. Cap.13. Espécies Nativas para Piscicultura no Brasil. Baldisserotto, B. e Gomes,  
1248 L.C. (org.) 2.ed.. Santa Maria, RS. Ed. da UFSM, pp. 363- 382  
1249

1250

1251

1252

1253

1254

1255

1256

1257

1258

1259

## **CAPÍTULO 2:**

1260

### **CORRELAÇÕES ENTRE PARÂMETROS QUALI-QUANTITATIVOS DO SÊMEN**

1261

#### **FRESCO DE *Steindachneridium parahybae* (STEINDACHNER, 1876)**

1262

*Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG

1263

1264 **Correlações entre parâmetros quali-quantitativos do sêmen fresco de**  
1265 ***Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1876)**

1266

1267 Danilo Caneppele<sup>a,b</sup>, Eduardo Antônio Sanches<sup>c</sup>, Elizabeth Romagosa<sup>d</sup>

1268

1269 <sup>a</sup>Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna, CESP - Rod. dos Tamoios, Km 38,  
1270 Bairro Rio Claro, Paraibuna, SP, BR. CP 66 - [danilo.caneppele@cesp.com.br](mailto:danilo.caneppele@cesp.com.br)

1271 <sup>b</sup>Programa de Pós-Graduação do Instituto de Pesca – APTA, SAA, São Paulo, SP, BR.

1272 <sup>c</sup>Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, SP, BR

1273 <sup>d</sup>Instituto de Pesca – APTA, SAA, São Paulo, SP, BR.

1274

1275 **Resumo**

1276 O objetivo foi avaliar os parâmetros espermáticos quali-quantitativos de *Steindachneridion*  
1277 *parahybae* e suas possíveis correlações, foram analisadas 156 amostras de sêmen fresco,  
1278 submetidas à análise de coeficiente de correlação de Pearson. Correlações significativas  
1279 ( $P < 0,05$ ) foram verificadas entre a porcentagem de espermatozóides normais e a taxa de  
1280 motilidade (0,3470); porcentagem de espermatozóides com uma alteração morfológica e o  
1281 tempo de motilidade (0,2524); taxa de motilidade e o tempo de motilidade (0,6055); taxa  
1282 de motilidade e a osmolaridade do plasma seminal (0,2368); tempo de motilidade e o pH  
1283 do plasma seminal (0,2706); porcentagem de espermatozóides com uma alteração  
1284 morfológica e osmolaridade do plasma seminal (-0,2285); taxa de motilidade e  
1285 porcentagem de alterações graves em espermatozóides com mais de duas alterações  
1286 morfológicas (-0,2172); tempo de motilidade e a porcentagem de alterações graves em  
1287 espermatozóides com mais de duas alterações morfológicas (- 0,2337); volume relativo de  
1288 sêmen e a concentração espermática (-0,3783). Sendo evidenciada a forte correlação entre  
1289 a taxa e o tempo de motilidade influenciadas pelo número e a gravidade das alterações  
1290 morfológicas. A osmolaridade do plasma seminal se correlacionou à taxa de motilidade e a  
1291 presença de alterações morfológicas, sendo que o pH influenciou o tempo de motilidade.  
1292 Também ficou evidente a relação inversa entre o volume relativo de sêmen e a  
1293 concentração espermática e que o percentual de espermatozóides normais proporcionou  
1294 um significativo aumento nas taxas de motilidade.

1295

1296 **Palavras Chave:** Características espermáticas, alterações morfológicas, surubim do

1297 Paraíba, machos

1298

1299 **Abstract**

1300 In order to assess the quali-quantitative sperm parameters of *Steindachneridion parahybae*  
1301 and their possible correlations, 156 samples of fresh semen were examined and submitted  
1302 to analysis of the Pearson correlation coefficient. Significant correlations ( $P < 0.05$ ) were  
1303 verified between the percentage of normal spermatozoa and motility rate (0.3470);  
1304 percentage of spermatozoa with one morphological change and motility time (0.2524);  
1305 motility rate and motility time (0.6055); motility rate and osmolarity of the seminal plasma  
1306 (0.2368); motility time and pH of the seminal plasma (0.2706); percentage of spermatozoa  
1307 with one morphological change and osmolarity of the seminal plasma (-0.2285); motility  
1308 rate and percentage of severe changes in spermatozoa with more than two morphological  
1309 changes (-0.2172); motility time and the percentage of severe changes in spermatozoa with  
1310 more than two morphological changes (- 0.2337); relative volume of semen and sperm  
1311 concentration (-0.3783). A strong correlation between motility rate and motility time  
1312 influenced by the number and severity of the morphological changes was observed. The  
1313 osmolarity of the seminal plasma correlated with motility rate and the presence of  
1314 morphological changes and the pH influenced motility time. The inverse relationship  
1315 between the relative volume of semen and the sperm concentration was also evident, as  
1316 well as the fact that the percentage of normal spermatozoa provided a significant increase  
1317 in the motility rates.

1318

1319 **Key Words:** Sperm characteristics, morphological changes, surubim do Paraíba, males

1320

1321 **Introdução**

1322 A conservação de um determinado recurso biológico aquático exige o  
1323 conhecimento de variáveis ecológicas, fisiológicas e comportamentais, importantes para  
1324 definir como uma determinada espécie sobrevive e se reproduz (Hilsdorf & Petreire, 2002).  
1325 Somado ao conhecimento destas variáveis, para o desenvolvimento de programas de  
1326 conservação *ex situ*, é de fundamental importância o controle do processo reprodutivo,  
1327 visando à produção de alevinos de qualidade para posterior introdução na natureza, porém  
1328 segundo Weingartner et al. (2008) os processos envolvidos na em larga escala ainda não  
1329 são dominados, necessitando de estudos que aumentem a sua eficiência.

1330 A realização da investigação científica, conduzida em cativeiro com espécies  
1331 ameaçadas, é imprescindível para o entendimento dos sistemas biológicos destes animais  
1332 (Baldisserotto, 2002), sendo esta prática cada vez mais utilizada para o desenvolvimento da  
1333 “Aqüicultura de Conservação” (Luz et al., 2001; Caneppele et al., 2009; Honji et al., 2009;  
1334 Tolussi et al., 2010).

1335 Para *Steindachneridion parahybae* a ampliação de conhecimentos sobre a sua  
1336 biologia é de extrema importância, tendo em vista que, dentre as nove espécies de peixes  
1337 ameaçadas na bacia do rio Paraíba do Sul, ela é a que apresenta a situação mais crítica  
1338 (MMA, 2008), sendo considerada regionalmente extinta no estado de São Paulo (SMA,  
1339 2009).

1340 Um dos principais aspectos para a intensificação da produção piscícola,  
1341 acompanhada da sustentabilidade tanto econômica como ambiental passa pela utilização da  
1342 propagação artificial ou reprodução induzida (Romagosa, 2006). Nesse sentido, para a  
1343 promoção da máxima fertilização e, subsequentemente, desenvolvimento normal do  
1344 embrião devem ser utilizados gametas masculinos e femininos de qualidade (Bobe &  
1345 Labbé, 2010; Tierch & Green, 2011). Os espermatozoides podem ser avaliados por meio  
1346 de características que devem estar relacionadas às taxas de fertilização (Fogli da Silveira et  
1347 al., 1988; Tuset et al., 2008; Galo et al., 2009).

1348 A qualidade do sêmen pode ser determinada pela avaliação de parâmetros como a  
1349 motilidade espermática progressiva, o vigor espermático, pH, a concentração de  
1350 espermatozoides e morfologia espermática. Dentre estes, a motilidade espermática é um  
1351 fator preponderante para qualidade do sêmen (Cosson et al., 1999; Tierch & Green, 2011)  
1352 e as alterações morfológicas das células espermáticas são responsáveis pela diminuição na  
1353 sua motilidade, provocando a redução na fertilização (Galo et al, 2009; Cosson, 2010).

1354 Raras são as investigações sobre as correlações entre os parâmetros espermáticos,  
1355 sendo que quando observadas, normalmente estão relacionadas ao volume, concentração e  
1356 taxas de fertilização (Viveiros & Godinho, 2009; Orfão et al, 2011).

1357 Neste sentido objetivou-se no presente estudo avaliar os parâmetros quali-  
1358 quantitativas do sêmen fresco de *Steindachneridion parahybae*, e suas possíveis  
1359 correlações.

### 1360 **Material e Métodos**

1361 O experimento foi conduzido entre os meses de outubro de 2009 e abril de 2010, na  
1362 Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna (S 23°24.888' W 45°35.991' e  
1363 altitude 640 m), pertencente a Companhia Energética de São Paulo – CESP, localizada no  
1364 município de Paraibuna – SP/BR.

1365 Para o início do estudo, 26 exemplares machos foram selecionados de um lote de *S.*  
1366 *parahybae*, produzido em dezembro de 2003 a partir de reprodutores selvagens (Caneppele  
1367 et al., 2009). A constatação da liberação de sêmen após leve pressão da cavidade  
1368 abdominal foi utilizada na confirmação de que os exemplares se encontravam maduros.

1369 Os exemplares foram pesados individualmente, marcados eletronicamente e  
1370 estocados em dois tanques de 10 m<sup>3</sup> ficando cada um com 13 animais. Durante o período  
1371 experimental, foram submetidos a seis coletas de sêmen, realizadas através de massagem  
1372 na cavidade abdominal do peixe no sentido encéfalo-caudal, em tubos de ensaio graduados  
1373 (0,1 mL). Um dos grupos foi submetido à indução hormonal com Extrato de Pituitária de  
1374 Carpa (EPC - 3,0 mg kg<sup>-1</sup>) e o outro não foi submetido à indução. A manipulação foi  
1375 realizada de acordo com os princípios éticos estabelecidos por Van Zetphen et al. (2001).

1376 Os valores de pH, oxigênio dissolvido (mg L<sup>-1</sup>) e temperatura da água (°C) foram  
1377 registrados três vezes por semana nos tanques dos dois grupos, com a utilização de um  
1378 Multianalizador marca Horiba mod. U50, Japão.

1379 O volume de sêmen coletado (mL) foi medido por observação direta em tubos de  
1380 ensaios graduados e o volume relativo ( $\text{mL kg}^{-1}$ ), calculado posteriormente, em função dos  
1381 pesos dos exemplares registrados nas coletas. Cada amostra foi mantida em caixas de  
1382 isopor contendo gelo (Marques & Godinho, 2004).

1383 Antes do início das análises, as amostras foram avaliadas em relação à coloração e  
1384 pré-ativação, sendo descartadas as amostras contaminadas por urina, sangue ou água  
1385 (Tiersch & Green, 2011).

1386 Os parâmetros avaliados foram a motilidade espermática (%), o tempo de duração  
1387 da motilidade (s), a concentração espermática ( $\text{sptz mL}^{-1}$ ), osmolaridade ( $\text{mOSM Kg}^{-1}$ ), pH  
1388 do plasma seminal e avaliação de alterações morfológicas.

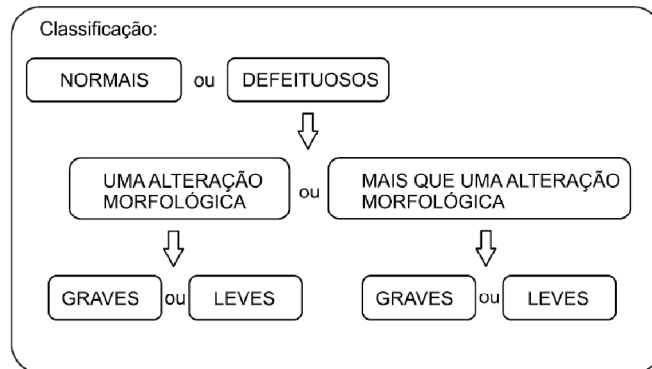
1389 A motilidade espermática (%) foi obtida por meio de análise subjetiva dos  
1390 movimentos progressivos em intervalos de incremento de 5 em 5%. O tempo de duração  
1391 da motilidade (s) foi realizado considerando-se quando 50% dos espermatozóides pararam  
1392 de se movimentar conforme descrito por Sanches et al. (2009) e Romagosa et al. (2010).  
1393 Para a mensuração foram utilizados 5  $\mu\text{L}$  de sêmen, diluídos em 200  $\mu\text{L}$  de solução  
1394 ativadora (água dos tanques), obtendo uma diluição sêmen:água de 0,025, sendo utilizados  
1395 5  $\mu\text{L}$  da solução resultante para a avaliação em um microscópio de luz ZEISS – Jenamed 2  
1396 - Germany (200 x). Para cada amostra de sêmen as análises foram realizadas em triplicata  
1397 (Sanches et al., 2009).

1398 Para a mensuração da concentração espermática ( $\text{sptz mL}^{-1}$ ), 10  $\mu\text{L}$  de sêmen de  
1399 cada amostra foram adicionados a 3000  $\mu\text{L}$  de formol salino tamponado, resultando em  
1400 uma diluição de 1:300. A contagem de células espermáticas foi realizada em câmara  
1401 hematimétrica de Neubauer (400x) (Wirtz & Steinmann, 2006; Sanches et al., 2011).

1402 Da mesma diluição utilizada para concentração espermática retirou-se uma alíquota  
1403 de 500  $\mu\text{L}$  na qual se adicionou 10  $\mu\text{L}$  do corante Rosa de Bengala. Após leve agitação,



1404 retirou-se uma gotícula de 10 µL que foi adicionada sobre uma lâmina de vidro deixando-a  
1405 escorrer e secar ao ar livre. Após a secagem, avaliou-se um número mínimo de 200  
1406 espermatozóides de cada exemplar em microscópio de luz ZEISS – Jenamed 2 - Germany  
1407 (500 x). Os espermatozóides normais ou com a presença de alterações morfológicas  
1408 (defeituosos) foram classificados seguindo a sequência apresentada na figura 1.



1409

1410 **Figura 1.** Esquema de classificação dos espermatozóides utilizada em *S. parahybae*

1411 A classificação das alterações morfológicas dos espermatozóides foi adaptada de  
1412 [Streit Jr et al. \(2006\)](#), sendo que as consideradas graves foram: cauda quebrada, enrolada,  
1413 degenerada, curta, abaxial, bifurcada, trifurcada e corrugada, duas caudas, duas cabeças,  
1414 cabeça delgada, requitiforme e periforme, microcefalia, macrocefalia e edema de colo. As  
1415 alterações morfológicas consideradas leves foram: cauda dobrada nas porções inicial ou  
1416 final, gota proximal ou distal, cabeça ou cauda solta.

1417 Amostras de sêmen com volumes acima de 1,5 mL foram submetidas a  
1418 centrifugação por 30 minutos a 50 Hertz, para obtenção do plasma seminal, que foi  
1419 armazenado em criotubos e congelado em nitrogênio líquido. O pH e a osmolaridade  
1420 destas amostras foram posteriormente mensuradas no Laboratório de Tecnologia de Sêmen  
1421 - Universidade Federal de Lavras – UFLA, MG (pHmetro digimed – DM22 e osmômetro  
1422 semimicro osmometer K7400 – Knauer.

1423 Os resultados obtidos foram submetidos à análise de estatística descritiva e  
 1424 posteriormente de correlação linear de Pearson ao nível de 5% de significância. O *software*  
 1425 utilizado para as análises foi o Statistica 7.0<sup>®</sup> (Statsoft, 2005).

## 1426 **Resultados e Discussão**

1427 Os valores médios verificados para o peso total, características quantitativas e  
 1428 qualitativas do sêmen fresco, osmolaridade e pH do plasma seminal de *S. parahybae* estão  
 1429 apresentados na Tabela 2.

### 1430 **Tabela 2**

1431 Valores médios do peso total, parâmetros quali-quantitativos do sêmen fresco,  
 1432 osmolaridade e pH do plasma seminal de *S. parahybae*.

Parâmetros	N	Média	D P	Mínimo	Máximo
PESO	156	501,06	119,18	270,00	965,00
EN	133	66,95	13,44	20,00	86,89
UAM	133	92,82	5,84	71,28	100,00
GUAM	133	34,96	16,38	6,20	90,74
DAM	133	7,18	5,84	0,00	28,72
GDAM	126	69,33	16,78	50,00	100,00
VREL	150	9,63	9,60	0,00	60,67
%MOT	134	80,41	13,95	36,67	100,00
TMOT	134	39,35	6,35	25,93	54,31
CSPZ ( $\times 10^9$ )	134	9,00	6,10	0,95	37,76
OSM	91	261,20	21,02	204,00	325,00
pH	91	7,28	0,36	6,67	8,31

1433 PESO (g); EN – Espermatozóides normais (%); UAM – Espermatozóides com uma alteração morfológica (%); GUAM –  
 1434 Alterações graves em espermatozóides com uma alteração morfológica (%); DAM – Espermatozóides com mais de uma  
 1435 alteração morfológica (%); GDAM - Alterações graves em espermatozóides com mais de uma alteração morfológica (%);  
 1436 VREL – Volume relativo de sêmen ( $\text{ml Kg}^{-1}$ ); %MOT – Taxa de motilidade (%); TMOT – Tempo de motilidade (s);  
 1437 CSPZ – Concentração espermática (espermatozóides  $\text{ml}^{-1}$ ); OSM – Osmolaridade do plasma seminal ( $\text{mOSM Kg}^{-1}$ ); pH –  
 1438 pH do plasma seminal.

1439 Os valores médios dos parâmetros avaliados durante este estudo estão na sua  
 1440 maioria dentro dos esperados para espécies tropicais (Viveiros e Godinho, 2009). Porém a  
 1441 porcentagem média de espermatozóides que apresentaram alterações morfológicas é  
 1442 bastante expressiva.

1443 Conforme [Kavamoto et al. \(1999\)](#), o estudo morfológico das células espermáticas e  
1444 sua relação com a infertilidade dos machos alcançaram maior importância com o advento  
1445 da inseminação artificial em mamíferos, especialmente na espécie bovina. Assim, foram  
1446 realizados pesquisas a fim de se evitar a expansão de doenças decorrentes de  
1447 anormalidades espermáticas, responsáveis pelo baixo índice de fertilidade ([Blom, 1973 ;](#)  
1448 [Barth & Oko, 1989](#)).

1449 O Colégio Brasileiro de Reprodução Animal recomenda não utilizar, na  
1450 inseminação artificial, sêmen com índices de espermatozóides com anormalidade acima de  
1451 30%, em bovinos e eqüinos, e de 20%, em ovinos e suínos ([CBRA, 1998](#)). No entanto,  
1452 para espécies icticas ainda não estão definidos tais limites.

1453 [Kavamoto et al. \(1999\)](#) estudando alterações morfológicas presentes no sêmen de  
1454 *Prochilodus lineatus* após indução hormonal com Hormônio da Gonadotrofina Coriônica  
1455 (HCG) observaram médias de 9,54% de espermatozóides com alterações morfológicas. No  
1456 entanto, [Moraes et al. \(2004\)](#) comparando o efeito de indução hormonal com diferentes  
1457 extratos de hipófise (carpa, frango e coelho) na morfologia espermática de *Leporinus*  
1458 *macrocephalus*, *Prochilodus lineatus* e *Cyprinus carpio*, obtiveram médias que variaram  
1459 entre 68,8 a 35,8% de espermatozóides com alterações morfológicas. Da mesma forma  
1460 [Streit Jr et al. \(2006\)](#) avaliando o efeito da indução hormonal com EPC na morfologia  
1461 espermática de *Piaractus mesopotamicus* verificaram médias de 41,8% para os exemplares  
1462 induzidos e de 37,4% para os não induzidos, sem diferenças significativas entre os  
1463 tratamentos.

1464 Do valor médio de 33,74% de espermatozóides com alterações morfológicas obtido  
1465 para *S. parahybae* no presente estudo, destaca-se que 92,01% do total apresentavam apenas  
1466 uma alteração, sendo que destas 35,69% foram classificadas como graves. Já nos  
1467 espermatozóides que apresentaram mais de uma alteração morfológica (7,99%) a

1468 porcentagem de alterações classificadas como graves sobe para 69,52%. Segundo [Bart &](#)  
 1469 [Oko \(1989\)](#) em mamíferos as alterações morfológicas primárias (graves) originan-se,  
 1470 dentre outros fatores, de idade avançada, de doenças infecciosas ou genéticas, da  
 1471 consanguinidade e do estresse dos reprodutores. Para *S. parahybae*, a pressão ambiental  
 1472 exercida sobre as suas populações naturais podem ter influenciado a fisiologia destes  
 1473 animais refletindo na qualidade espermática da espécie.

1474 Os coeficientes de correlação indicam a força e a direção do relacionamento linear  
 1475 entre duas variáveis aleatórias. No uso estatístico geral, correlação se refere a medida da  
 1476 relação entre duas variáveis, embora correlação não implique em causalidade ([Quinn &](#)  
 1477 [Keough 2002](#)).

1478 Na Tabela 3 são apresentadas as correlações de Pearson entre os parâmetros  
 1479 avaliados, sendo sublinhadas as significativas ao nível de confiança de 95%.

1480 **Tabela 3**

1481 Coeficientes de correlações lineares de Pearson entre peso e as características seminais de  
 1482 *S. parahybae*.

	PESO	EN	UAM	GUAM	GDAM	VREL	%MOT	TMOT	CSPZ	OSM	pH
PESO	1,0000										
EN	-0,0584	1,0000									
UAM	0,0407	0,0029	1,0000								
GUAM	0,0140	0,0332	0,0295	1,0000							
GDAM	0,0676	-0,1009	-0,2087	-0,0828	1,0000						
VREL	-0,1366	-0,0277	0,0261	-0,0317	0,0313	1,0000					
%MOT	0,1288	<u>0,3470</u>	0,1664	-0,0324	<u>-0,2172</u>	0,0742	1,0000				
TMOT	0,0106	0,1431	<u>0,2524</u>	0,0733	<u>-0,2337</u>	0,1303	<u>0,6055</u>	1,0000			
CSPZ	-0,1092	0,0671	0,0570	0,1946	-0,1046	<u>-0,3783</u>	0,1031	0,0382	1,0000		
OSM	-0,0119	0,0153	<u>-0,2285</u>	0,1087	-0,1568	0,0580	<u>0,2368</u>	0,0870	0,1493	1,0000	
pH	0,0090	0,0716	0,1071	0,0216	-0,0074	-0,1675	0,0579	<u>0,2706</u>	-0,0759	0,0638	1,0000

1483 **P < 0,05.**

1484 PESO – peso dos reprodutores (g); EN – Espermatozoides normais (%); UAM – Espermatozoides com uma  
 1485 alteração morfológica (%); GUAM – Alterações graves em espermatozoides com uma alteração morfológica  
 1486 (%); GDAM - Alterações graves em espermatozoides com mais de uma alteração morfológica (%); VREL –  
 1487 Volume relativo de sêmen (ml Kg<sup>-1</sup>); %MOT – Taxa de motilidade (%); TMOT – Tempo de motilidade (s);  
 1488 CSPZ – Concentração espermática (espermatozoides ml<sup>-1</sup>); OSM – Osmolaridade do plasma seminal (mOSM  
 1489 Kg<sup>-1</sup>); pH – pH do plasma seminal.

1490 Os valores do peso, verificados nos exemplares avaliados, não apresentaram  
1491 correlação significativa com nenhum dos demais parâmetros espermáticos investigados.

1492 Para bovinos correlações positivas entre o peso dos animais e a motilidade  
1493 espermática volume ejaculado e idade dos animais foram observadas por [Salvador et al.](#)  
1494 [\(2008\)](#), no presente estudo estas correlações não foram identificadas possivelmente por se  
1495 tratar de um lote único de reprodutores de mesma idade e pouca variação deste parâmetro.

1496 Entre os parâmetros qualitativos, número (uma ou duas) e tipo (leves ou graves) de  
1497 alterações morfológicas, também não foram observadas correlações significativas (Tabela  
1498 3), mostrando que as mesmas, provavelmente, se relacionam com outros fatores intrínsecos  
1499 ou ambientais. Para [Bromage \(1995\)](#), dentre outros fatores, a qualidade da alimentação dos  
1500 reprodutores, as condições ambientais, o estresse causado na captura, a manipulação de  
1501 indução, as características genéticas e o estágio de maturação podem influenciar os índices  
1502 reprodutivos, sendo que conforme [Romagosa \(2008\)](#) salienta, o desenvolvimento gonadal é  
1503 governado pelo balanço dos fatores genéticos e ambientais.

1504 O volume relativo de sêmen e a concentração espermática apresentaram correlação  
1505 negativa (- **0,3783**), sendo inversamente influenciados, entretanto, com relação aos demais  
1506 parâmetros avaliados não foram observadas outras correlações significativas com o volume  
1507 relativo e a concentração espermática da espécie (Tabela 3). Esses resultados sugerem que,  
1508 quanto maior a liberação de sêmen dos exemplares de *S. parahybae*, menor será a  
1509 concentração espermática. Além disso, no decorrer do experimento foi observado  
1510 subjetivamente que a coloração também é um aspecto importante com relação ao volume e  
1511 a concentração, pois quanto mais branco o aspecto do sêmen, menor o volume e maior a  
1512 sua concentração espermática, sendo que quando os volumes eram maiores e as  
1513 concentrações menores o sêmen se apresentava mais transparente.

1514 Estes resultados são importantes para aplicações práticas em laboratórios de  
1515 reprodução, nos quais, na maioria das vezes a mensuração da concentração espermática  
1516 não é realizada por falta de equipamentos e/ou mão de obra qualificada (Sanches et al.,  
1517 2011), além disso, constitui indicativo para o estabelecimento da dose inseminante  
1518 adequada para a espécie nas rotinas de indução (Bombardelli et al., 2006; Sanches et al.,  
1519 2009)

1520 Orfão et al. (2011) também observaram correlação negativa entre o volume e  
1521 concentração espermática em *Brycon opalinus*. A relação entre a concentração espermática  
1522 e o volume de sêmen é frequentemente relatada em peixes quando comparados antes e  
1523 após tratamento hormonal, pois o hormônio normalmente estimula a produção de fluido  
1524 seminal, provocando a diluição do sêmen (Viveiros & Godinho, 2009).

1525 A taxa de motilidade se apresentou fortemente correlacionada (**0,6055**) ao tempo de  
1526 motilidade, significando uma maior duração da motilidade quando verificadas taxas de  
1527 motilidade mais elevadas. Para Stoss (1983) e Cosson et al. (1999), o tempo de vida dos  
1528 espermatozoides, apresenta variação entre as espécies de peixes e coincide, geralmente,  
1529 com o período de fertilização dos ovócitos. Nesse estudo, porém, a forte correlação  
1530 encontrada entre estes parâmetros sugere que outros fatores como as diferentes reservas de  
1531 energia (ATP) nas células espermáticas, problemas na morfologia dos espermatozoides e  
1532 ou modificações provocadas pelo estresse químico, podem estar atuando sobre as taxas de  
1533 motilidade e o tempo de motilidade de maneira similar.

1534 Segundo Cosson (2010) a duração da motilidade dos espermatozoides de peixes  
1535 também é limitada por danos que aparecem durante a ativação, resultantes de defeitos de  
1536 membrana, gerados pelo estresse osmótico, provocando o surgimento de bolhas  
1537 citoplasmáticas que emergem em diferentes lugares ao longo do comprimento flagelar ou  
1538 um processo de “curling” (enrolamento) desenvolvido na ponta do flagelo, o que

1539 obviamente reduz, em parte, a eficiência na propagação das ondas ao longo do flagelo. Tal  
1540 observação deve afetar não apenas o tempo de duração mas também as taxas de  
1541 motilidade, podendo sugerir uma explicação para a forte correlação verificada no presente  
1542 estudo.

1543 Outro parâmetro que apresentou correlação positiva com o tempo de motilidade (s)  
1544 foi o pH do plasma seminal (**0,2706**), indicando que quanto maior o pH do plasma maior  
1545 foi o tempo em que os espermatozóides permaneceram móveis. Neste sentido, já foram  
1546 verificadas que condições alcalinas podem aumentar a percentagem de células móveis e a  
1547 capacidade de fertilização dos espermatozóides de salmonídeos (Billard, 1981),  
1548 influenciando o comportamento da motilidade (Boitano & Omoto, 1992).

1549 A osmolaridade do plasma seminal apresentou correlação positiva com as taxas de  
1550 motilidade (**0,2368**), e negativa com o percentual de espermatozóides que apresentaram  
1551 uma alteração morfológica (**-0,2285**). Porém, Babiak et al. (2006) relacionaram a  
1552 degeneração dos espermatozóides de *Hippoglossus hippoglossus* com o aumento da  
1553 osmolaridade do plasma seminal, o que poderia ser investigado em nossas espécies,  
1554 buscando indicativos da viabilidade do sêmem.

1555 O aumento do percentual de alterações morfológicas graves em espermatozóides  
1556 com mais de uma alteração se correlacionou negativamente com o tempo e taxa de  
1557 motilidade **-0,2337** e **-0,2172**, respectivamente, tendo sido verificada correlação positiva  
1558 entre o percentual de espermatozóides normais e as taxas de motilidade (**0,3470**). Tais  
1559 resultados são corroborados por Cosson et al., (1999) que consideraram as anormalidades  
1560 morfológicas das células espermáticas como responsáveis pela diminuição na motilidade  
1561 espermática, provocando a redução nos valores das taxas de fertilização.

1562 Os resultados apresentados demonstram indicativos relacionados à perda de  
1563 viabilidade espermática, porém, outros estudos deverão ser realizados com o intuito de

1564 verificar os efeitos destes parâmetros sobre a capacidade de fertilização de ovócitos de *S.*  
1565 *parahybae*.

### 1566 **Conclusões**

1567 Para *S. parahybae*, sob as condições experimentais, o tempo de motilidade  
1568 apresentou forte correlação positiva com a taxa de motilidade. Esses parâmetros foram  
1569 influenciados negativamente pelo número e gravidade das alterações morfológicas  
1570 presentes nos espermatozóides, sendo que o aumento na porcentagem de espermatozóides  
1571 normais proporciona uma significativa elevação nas taxas de motilidade. Também foi  
1572 evidenciada a relação inversa entre o volume relativo de sêmen e a concentração  
1573 espermática.

### 1574 **Agradecimentos**

1575 Somos gratos à CESP/ANEEL P&D (0061-017/2006); CNPq (478347/2009-0).  
1576 Aos funcionários da Estação de Hidrobiologia e Aquicultura de Paraibuna – CESP e a  
1577 Equipe do Laboratório de Tecnologia de Sêmen - Universidade Federal de Lavras – UFLA,  
1578 MG, pela realização das análises de pH e osmolaridade do plasma seminal.

### 1579 **Referências**

1580

1581 BABIAK, I.; OTTESEN, O.; RUDOLFSEN, G. et al. Quantitative characteristics of  
1582 Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, semen throughout the reproductive season.  
1583 **Theriogenology**, v.65, p.1587-1604, 2006.

1584 BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de Peixes Aplicada a Piscicultura**. Santa Maria:  
1585 Ed. UFSM, 2002. 212p.

1586 BARTH, A.D.; OKO, R.J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa**. Ames,  
1587 Iowa State University Press, 1989. 285 p.

1588 BILLARD, R. Short-term preservation of sperm under oxygen atmosphere in rainbow  
1589 trout, *Salmo gairdneri*. **Aquaculture**, v.23, p.287–293, 1981.

1590 BLOM, E. Ultrastrukturen af nogle spermiedefekter of for slag til et nyt klassificerings-  
1591 system for tyrens spermogram. The ultrastructure of some characteristic sperm defect and  
1592 a proposal for a new classification of bull spermogram. **Nordisk Veterinaer Medicin.**,  
1593 v.25, n.7-8, p.383-391, 1973.

1594 BOBE, J.; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. **General and Comparative**  
1595 **Endocrinology**, v.165, p.535-548, 2010.



- 1596 BOITANO, S.; OMOTO, C.K. Trout sperm swimming patterns of role of intracellular  
1597 Ca<sup>2+</sup>. **Cell Motility and the Cytoskeleton** v.21, p.74–82, 1992.
- 1598 BOMBARDELLI, R.A.; MÖRSCHBÄCHER, E.F.; CAMPAGNOLO, R. et al. Dose  
1599 inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy &  
1600 Gaimard, 1824). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1251-1257, 2006.
- 1601 BROMAGE, N. Broodstock management and seed quality. General considerations. In:  
1602 BROMAGE, N.; ROBERTS, R.J. (Ed.). **Broodstock management and egg larval**  
1603 **quality**. Oxford: Blackwell Science, 1995. p.1-24.
- 1604 CANEPPELE, D.; HONJI, R.M.; HILSDORF, A.W.S. et al. Induced spawning of the  
1605 endangered neotropical species *Steindachneridion parahybae* (Siluriforme: Pimelodidae).  
1606 **Neotropical Ichthyology**, v.7 n.4, p.759-762, 2009.
- 1607 COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual para**  
1608 **exame andrológico e avaliação do sêmen animal**. 2. ed. Belo Horizonte: Colégio  
1609 Brasileiro de Reprodução Animal, 1998. 49p.
- 1610 COSSON J. Frenetic activation of fish spermatozoa flagella entails short-term motility,  
1611 portending their precocious decadence. **Journal of Fish Biology**, v.76, p.240-279, 2010.
- 1612 COSSON, J.; BILLARD, R.; CIBERT, C. et al. Regulation of axonemal wave  
1613 parameters of fish spermatozoa by ionic factors. In: GAGNON, C. (Ed): **The male**  
1614 **gamete: from basic knowledge to clinical applications**. Paris: Cache River, 1999. p. 161-  
1615 186.
- 1616 FOGLI DA SILVEIRA, W.; KAVAMOTO, E.T.; RIGOLINO, M.G. Fertilidade do  
1617 sêmen de truta arco-íris, *Salmo irideus* gibbons, em diferentes concentrações de  
1618 espermatozóides por óvulo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.15, n.1, p.51-54,  
1619 1988.
- 1620 GALO, J. M.; STREIT, JR D.P.; POVH, J.A. et al. Sêmen de jundiá *Leiarius*  
1621 *marmoratus* (Gill, 1870) resfriado sem adição de solução crioprotetora **46º Reunião Anual**  
1622 **da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Maringá, PR, UEM, 2009.
- 1623 HILSDORF, A.W.S.; PETRERE M. Conservação de peixes na bacia do rio Paraíba do  
1624 Sul. **Ciência Hoje**, v.30, p.62-65, 2002.
- 1625 HONJI, R.M.; CANEPPELE, D.; HILSDORF, A.W.S. et al. Threatened fishes of the  
1626 world: *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) (Siluriformes: Pimelodidae).  
1627 **Environmental Biology of Fishes**, v.85, p.207–208, 2009.
- 1628 KAVAMOTO, E.T.; BARNABE, V.H.; CAMPOS, B.E.S. et al. Anormalidades  
1629 morfológicas nos espermatozóides do curimatá, *Prochilodus lineatus* (Steindachner,  
1630 1881) (Osteichthyes, Characiformes, Prochilodontidae). **Boletim do Instituto de Pesca**,  
1631 São Paulo, v.25, p.61-66, 1999.
- 1632 LUZ, R.K.; FERREIRA, A.A.; REYNALT, D.A.T et al. Avaliação qualitativa e  
1633 quantitativa do sêmen do suruvi, *Steindachneridion scripta* (pimelodidae). **Boletim do**  
1634 **Instituto de Pesca**, v.27, n.1, p.39-42, 2001.
- 1635 MARQUES, S.; GODINHO, H.P.. Short-term Cold Storage of Sperm from Six  
1636 Neotropical Characiformes Fishes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47,  
1637 n.5, p.799-804, 2004.
- 1638 MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA. **Livro Vermelho da Fauna**  
1639 **Ameaçada de Extinção**. MACHADO, A.B.M., DRUMMOND, G. M., PAGLIA, A.P.

- 1640 (Ed). – 1.ed – Brasília, DF: MMA; Belo Horizonte, MG : Fundação Biodiversitas, 2008.  
1641 (Vol.2). 1420 p.
- 1642 MORAES G.V. de; STREIT JR. D.P.; RIBEIRO R.P. et al. Ação de diferentes  
1643 indutores reprodutivos hormonais no aparecimento de anormalidades morfológicas em  
1644 espermatozóides de Piavuçu (*Leporinus macrocephalus*), Curimbatá (*Prochilodus lineatus*)  
1645 e Carpa Comum (*Cyprinus carpio*). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.30, n.2,  
1646 p.109-116, 2004.
- 1647 ORFÃO, L.H.; NASCIMENTO, A.F.; CORRÊA, F.M. et al. Extender composition,  
1648 osmolality and cryoprotectant effects on the motility of sperm in the Brazilian endangered  
1649 species *Brycon opalinus* (Characiformes). **Aquaculture**, v.311, p.241–247, 2011.
- 1650 QUINN, G.P.; KEOUGH, M.J. **Experimental Design and Data Analysis for**  
1651 **Biologists**. Cambridge University Press, New York, 2002. 537p.
- 1652 ROMAGOSA, E. Biologia reprodutiva e fisiologia de peixes em confinamento: o  
1653 cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* como modelo. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI E.C.  
1654 (Ed) **Tópicos Especiais em Biologia Aquática e Aqüicultura**. Sociedade Brasileira de  
1655 Aquicultura e Biologia Aquática, Jaboticabal, SP, 2006. p.108-116
- 1656 ROMAGOSA, E. Avanços na reprodução de peixes migradores. In: CYRINO, J.E.P.;  
1657 URBINATI E.C. (Ed) **Tópicos Especiais em Biologia Aquática e Aqüicultura**.  
1658 Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Jaboticabal, SP, 2008. p.1-16.
- 1659 ROMAGOSA, E., SOUZA, B.E., SANCHES, E.A. et al Sperm motility of *Prochilodus*  
1660 *lineatus* in relation to dilution rate and temperature of the activating medium. **Journal**  
1661 **Applied Ichthyology**, v.26, p.678–681, 2010.
- 1662 SALVADOR, D.F.; ANDRADE V.J.; VALE FILHO V.R. et al. Associação entre o  
1663 perfil andrológico e a congelação de sêmen de touros da raça Nelore aos dois anos de  
1664 idade, pré-selecionados pela classificação andrológica por pontos (CAP) **Arquivo**  
1665 **Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v.60, n.3, p.587-593, 2008.
- 1666 SANCHES, E. A., BOMBARDELLI, R. A., BAGGIO, D. M. et al. Dose inseminante  
1667 para fertilização artificial de ovócitos de dourado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38,  
1668 n.11, p.2091-2098, 2009.
- 1669 SANCHES, E.A., MARCOS R.M., BAGGIO D.M. et al. Estimativa da concentração  
1670 espermática do sêmen de peixe pelo método de espermátocrito. *Revista Brasileira de*  
1671 *Zootecnia*, v.40, n.6, p.1163-1167, 2011.
- 1672 SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE - SMA. **Fauna Ameaçada De Extinção no**  
1673 **Estado de São Paulo: Vertebrados**. BRESSAN P.M.; KIERULFF M.C.M.; SUGIEDA  
1674 A.M. (Coord.). Fundação Parque Zoológico de São Paulo: SMA. São Paulo, SP, 2009.  
1675 645p
- 1676 STOSS, J. Fish gamete preservation and spermatozoan physiology. In: HOAR, W.S.;  
1677 RANDALL, D.J.; DONALDSON, E.M.. (Ed). **Fish physiology**. Orlando: Academic,  
1678 1983, p. 305-350.
- 1679 STREIT JR., D.P.; RIBEIRO, R.P.; MORAES, G.V. et al. Características qualitativas  
1680 do sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após indução hormonal. **Bioscience**  
1681 **Journal**, v.22, n.3, p.119-125, 2006.
- 1682 TIERSCH, T.R & GREEN, C.C. **Cryopreservation in Aquatic Species**. 2<sup>nd</sup> Edition.  
1683 Word Aquaculture Society. Baton Rouge, USA, 2011. 1003p.

- 1684 TOLUSSI, C.E.; HILSDORF, A.W.S.; CANEPPELE, D. et al.. The effects of stocking  
1685 density in physiological parameters and growth of the endangered teleost species piabanha,  
1686 *Brycon insignis* (Steindachner, 1877). **Aquaculture**, v.310, p.221–228, 2010.
- 1687 TUSET, V.M.; DIETRICH, G.J.; WOJCZAK, M. et al. Relationships between  
1688 morphology, motility and fertilization capacity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)  
1689 spermatozoa. **Journal Applied Ichthyology**, v.24, p.393-397, 2008.
- 1690 VAN ZUTPHEN, L.F.M.; BAUMANS, V.; BEYNEN, A.C. **Principles of Laboratory**  
1691 **Animal Science** – A Contribution to the humane use and care of animals and to the quality of  
1692 experimental results. Revised edition, Elsevier, Amsterdam, 2001.428p.
- 1693 VIVEIROS, A.T.M.; GODINHO, H.P.. Sperm quality and cryopreservation of  
1694 Brazilian freshwater fish species: a review. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.35, 137-  
1695 150, 2009.
- 1696 WEINGARTNER, M; FRACALOSSO, D.M; BEUX, L.F. et al. Desenvolvimento de  
1697 tecnologia de cultivo para peixes nativos do Alto Rio Uruguai. in: ZANIBONI-FILHO, E.;  
1698 NUÑER, A.P.O. (Ed): **Reservatório de Itá: Estudos Ambientais, Desenvolvimento de**  
1699 **Tecnologia de Cultivo e Conservação da Ictiofauna**. Editora UFSC, Florianópolis, SC ,  
1700 2008. p 257 a 306.
- 1701 WIRTZ, S.; STEINMANN, P. Sperm characteristics in perch *Perca fluviatilis*. **Journal**  
1702 **of Fish Biology**, 68, 1896-1902, 2006.
- 1703

1704 **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

1705

1706 Levando-se em conta o avanço tecnológico do método computacional  
1707 cada vez mais presente na caracterização espermática de peixes no Brasil,  
1708 sugerimos que os resultados aqui apresentados sejam corroborados futuramente  
1709 através desta técnica. Outro fator imprescindível, para a utilização plena dos  
1710 conhecimentos obtidos durante a realização deste estudo, principalmente no que  
1711 tange à produção de sêmen ao longo do ciclo reprodutivo, é o estabelecimento de  
1712 experimentos de fertilização, para verificação de correlações entre os parâmetros  
1713 analisados e o efetivo cumprimento das funções dos gametas masculinos, como  
1714 altas taxas de fecundação e produção de larvas de qualidade, contribuindo para a  
1715 conservação de *Steindachneridion parahybae*.