

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS DE TAMBAQUI
EM DIFERENTES INTERVALOS NA MESMA ESTAÇÃO
REPRODUTIVA**

Luana Barbosa Pires

**CAMPO GRANDE, MS
2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS DE TAMBAQUI EM
DIFERENTES INTERVALOS NA MESMA ESTAÇÃO
REPRODUTIVA**

Sperm characteristics of tambaqui at different intervals in the same breeding
season

Luana Barbosa Pires

Orientador: Prof. Dr. Jayme Aparecido Povh

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato grosso
do Sul, como requisito à obtenção do
título de Mestre em Ciência Animal.
Área de concentração: Produção
Animal.

CAMPO GRANDE, MS, 2016

Certificado de aprovação

LUANA BARBOSA PIRES

**Características espermáticas de tabaqui em diferentes
intervalos na mesma estação reprodutiva**

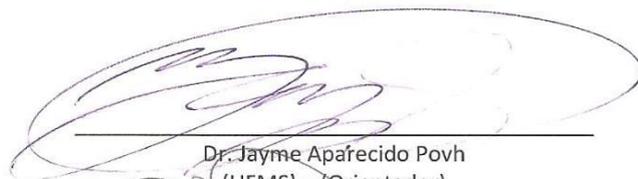
**Tabaqui sperm characteristics at different intervals
in the same breeding season**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, como requisito à obtenção do
título de mestra em Ciência Animal.

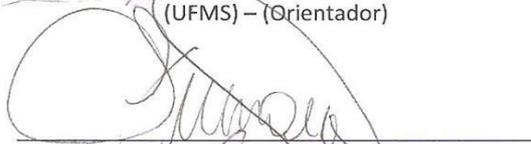
Área de concentração: Produção
Animal.

Aprovado(a) em: 25/02/2016

BANCA EXAMINADORA:



Dr. Jayme Aparecido Povh
(UFMS) – (Orientador)



Dr. Luis Antonio Kibshi Aoki Inoue
EMBRAPA



Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes
UFMS

Dedicatória

Dedico aos meus pais, Ivão e Maria, a minha irmã, Verônica, que sempre me apoiaram e incentivaram, ajudando-me a superar todas as dificuldades e a buscar os meus sonhos, sendo fundamentais em todos os momentos da minha vida me ajudando ser forte para seguir em frente.

Amo muito vocês!

Dedico também ao meu orientador Jayme, que através dos seus ensinamentos, sabedoria e paciência, tornou possível este sonho, que não só contribuiu para o meu crescimento profissional, como também para minha evolução como ser humano.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ser minha fortaleza e me permitir chegar até aqui.

Aos meus pais, Ivão Pires e Maria das Dores Barbosa Pires e minha irmã Verônica Pires, pela confiança dedicada a mim, por nunca medirem esforços e fazerem tudo que estava ao alcance, e provavelmente abdicando dos seus sonhos para que eu realizasse o meu para que eu pudesse me tornar quem sou hoje.

Ao meu orientador Dr. Jayme Aparecido Povh pelos ensinamentos e orientação o que fez toda diferença em meu crescimento profissional, agradeço também pela confiança depositada em mim e pelas oportunidades.

Ao co-orientador Dr. Ruy Alberto Caetano Corrêa Filho, pelo apoio, auxílio e ensinamentos.

Ao co-orientador Dr. Eduardo Antonio Sanches, pela amizade, auxílio, incentivo e ensinamentos em todos os momentos.

A minha amiga Rosiane Araujo Rodrigues e toda sua família que se tornaram minha família me ajudando em todos os momentos, Resenângela Costa Lunas Brito que me auxiliou no início do experimento, Rebeca Marco que me auxiliou em todos os momentos que precisei mesmo estando longe e aos amigos, Bruna Santos, Daiane Alves, Mariane Hengling, Nicolás Roque, Rafael Brandão, Ricardo Kondo e Viviane Ikeda que estiveram presentes nesta caminhada e que proporcionaram momentos de felicidade e compartilharam também dos momentos de tristeza em especial a minha amiga Nara Centamori Maranhão pelo convívio do dia a dia e Igor Pinheiro pelo carinho, compreensão e apoio em todos os momentos.

A todos os funcionários da Piscicultura Buriti e principalmente ao Sr. José Mario, pela cooperação, incentivo e ensinamentos e pelos animais cedidos para utilização na realização do experimento.

Ao FUNDECT pela concessão de bolsa e FAPEMAT pelo recurso cedido para realização deste trabalho.

Aos professores e funcionários pelos ensinamentos e apoio prestados durante todo mestrado e aos colegas.

“Desistir?”

*Eu já pensei seriamente nisso, mas nunca me levei realmente a sério.
É que tem mais chão nos meus olhos do que cansaço nas minhas pernas,
mais esperança nos meus passos do que tristeza nos meus ombros,
mais estrada no meu coração do que medo na minha cabeça.”*

Cora Coralina

Resumo

PIRES, L.B. Características espermáticas de tambaqui em diferentes intervalos na mesma estação reprodutiva. 2016. 31 f. Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2016.

A utilização de reprodutores de espécies reofílicas mais de uma vez no período reprodutivo, prática incomum devido à ausência de protocolos, permite aumentar a intensidade de utilização destes, o que é de grande importância visando aumentar a utilização dos peixes de maior valor genético. Objetivou-se avaliar as características qualitativas e quantitativas do sêmen de tambaqui em coletas sucessivas na mesma estação reprodutiva. O experimento foi conduzido em uma piscicultura comercial no Estado de Mato Grosso - MT, (13° 51' 57,2" e 56° 11' 30,2") no período de setembro de 2014 a fevereiro de 2015. Foram utilizados seis reprodutores (6,43±1,48 kg). Para indução reprodutiva foi utilizado 2,5 mg de extrato de hipófise de carpa/kg aplicado na base da nadadeira pélvica em dose única. O sêmen foi coletado após um período de ±240 horas-grau (soma da temperatura de hora em hora) (24 – 26°C), em seringas graduadas. Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados, onde cada peixe foi considerado um bloco e as coletas, os tratamentos. Os resultados obtidos mostram que o volume de sêmen coletado diminuiu ao longo das coletas; a concentração espermática e motilidade se mantiveram em todas as coletas; e a velocidade em linha reta e progressão foram maiores na segunda coleta. Sendo assim conclui-se que qualidade do sêmen foi mantida nas duas primeiras coletas, sendo que a redução de algumas características na qualidade do sêmen na terceira coleta pode estar relacionado ao final do período, entretanto, indica que os reprodutores podem ser utilizados mais de uma vez durante o período reprodutivo.

Palavras-chave: *Colossoma macropomum*; reprodução induzida de peixes; peixes reofílicos

Abstract

PIRES, L.B. Sperm characteristics of tambaqui at different intervals in the same breeding season. 2016. 31 f. Dissertation - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2016.

The use of breeding rheophilic species more than once in the reproductive period, unusual practice due to lack of protocols, allows to increase its intensity of use, which is of great importance to increase the use of higher genetic value fish. This study aimed to evaluate the qualitative and quantitative sperm characteristics of tambaqui in successive collections in the same breeding season. The experiment was conducted in a commercial fish farm in the state of Mato Grosso - MT, (13° 51 '57.2 "and 56 11' 30.2") from September 2014 to February 2015 six breeding were used (6 43 ± 1.48 kg). For reproductive induction was used 2.5 mg of carp pituitary extract / kg applied to the base of the pelvic fin in a single dose. Semen was collected after a period of ± 240 hours -degree (sum of the time temperature time) (24 - 26°C) in graduated syringes. A randomized blocks, where each fish was considered a block and the collection, treatment was used. The results show that the collected semen volume decreased over the collections; sperm concentration and motility remained in all samples; and straight-line speed and progression were higher in the second collection. Therefore it is concluded that the semen quality was maintained in the first two collections, and the reduction of some characteristics in semen quality in the third collection can be related to the end of the period, however, indicates that the breeding can be used over a time during the reproductive period.

Keywords: *Colossoma macropomum*; induced breeding of fish; rheophilic fish

Lista de ilustrações

Figura 1 - Macho de tabaqui utilizado durante o experimento.....	3
Figura 2 - Testículo de tabaqui.....	6
Figura 3 - Morfologia espermática do tabaqui.....	8
Figura 4 - Sobrevivência espermática do tabaqui.....	9

Lista de tabelas

Tabela 1 - Valores medianos de peso e características quantitativas e qualitativas do sêmen de reprodutores de tambaqui (<i>C. macropomum</i>) submetidos a três coletas durante o período reprodutivo (setembro a fevereiro)	23
Tabela 2 - Valores medianos da cinética espermática de reprodutores de tambaqui (<i>C. macropomum</i>) submetidos a três coletas durante o período reprodutivo (setembro a fevereiro)	24

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1. Tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	2
2.2. Biologia reprodutiva	3
2.3. Reprodução induzida	4
2.4. Morfologia testicular	6
2.5. Características seminais/ espermáticos.....	6
2.5.1. Volume seminal.....	6
2.5.2. Características Espermáticas	7
2.5.3. Morfologia Espermática	7
2.5.4. Motilidade.....	8
2.5.5. Concentração Espermática	8
2.5.6. Sobrevivência Espermática.....	9
2.5.7. Computer Assisted Sperm Analysis (CASA).....	10
REFERÊNCIAS	12
Características espermáticas de tambaqui em diferentes intervalos na mesma estação reprodutiva.....	17
1. Introdução.....	17
2. Material e Métodos	18
2.1. Local e Animais.....	18
2.2. Indução Hormonal	19
2.3. Análises espermáticas.....	20
Análise estatística	21
3. Resultados.....	22
4. Discussão	25
5. Conclusão	29
AGRADECIMENTOS	29
REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta um grande potencial aquícola devido a grande disponibilidade de água doce (12% reserva mundial), temperatura favorável, grande disponibilidade de insumos para produção das rações, grande diversidade de peixes e de extensão marítima e territorial (LOPERA-BARRERO et al., 2011). Além disso, o consumidor tem buscado cada vez mais alimentos saudáveis, tendo em vista o aumento do consumo per capita nos últimos anos, principalmente a busca por alimentos mais saudáveis e de alto valor nutritivo. Estes fatores justificam o grande aumento da produção aquícola e as perspectivas de crescimento do Brasil e no mundo. Todavia, o Brasil ocupa apenas 17º lugar na produção aquícola mundial (BRASIL, 2013).

De acordo com os dados apresentados pelo Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA (BRASIL, 2013) a produção brasileira de pescado para o ano de 2011 foi de 1.431.974,4 t, registrando-se um aumento de 13,2% em relação ao ano anterior. Os dados do MPA também mostram que a aquicultura continental foi o segmento que mais cresceu em 2011 em relação a 2010, com aumento de 31,1%, com produção de 628.704,3 t, enquanto na aquicultura marinha houve uma redução de 1,0%, com produção de 84.214,3 t., a pesca extrativista (marinha e continental) teve um leve aumento de 2,2%, com produção de 803.270,2 toneladas (BRASIL, 2013).

A piscicultura é a atividade que mais tem contribuído para o desenvolvimento da aquicultura, apresentando um crescimento de 60,2% de 2007 a 2009, chegando a 82,3% em 2010 (BRASIL, 2012). No ano de 2013 a aquicultura foi representada por dois grupos de peixes com maior produção, entre eles está à tilápia do Nilo (exótica—origem africana) e o tambaqui (nativa do Brasil): a primeira apresentou uma produção de 169.306,011 t e a segunda apresentou 88.718,502 t; no ano de 2014 a tilápia teve uma produção de 198.664,464 t e o tambaqui 139.209,130 t, fazendo com que estas duas espécies continuem entre as duas mais produzidas no Brasil (IBGE, 2015).

O tambaqui é a espécie nativa mais produzida e que apresenta maior abrangência nacional, encontrado em 26 estados brasileiros (IBGE, 2015). Este peixe apresenta boa conversão alimentar, hábito alimentar onívoro, capacidade de filtração, rápido crescimento, resistência a baixo nível de oxigênio na água e carne com grande aceitabilidade (LOPERA-BARRERO et al., 2011), características que justificam o interesse por esta espécie.

A reprodução do tambaqui em ambiente natural ocorre com o aumento do fotoperíodo, temperatura e chuvas, com maior concentração nos meses de novembro a fevereiro, tendo os

estímulos fisiológicos regulados pelos fatores externos (MUNIZ et al., 2008). Por ser tratar de uma espécie reofílica, quando criado em piscicultura ocorre as restrições de fatores ambientais suprimindo, de alguma forma, a ação dos hormônios indutores da desova, pois, embora haja o desenvolvimento gonadal, o processo da maturação final não acontece (ZOAR & MYLONAS, 2001) sendo necessária a indução hormonal.

O extrato bruto de hipófise de carpa é o indutor reprodutivo mais utilizado nas pisciculturas brasileiras para reprodução induzida de peixes reofílicos (ZANIBONI & WEINGARTNER, 2007). Nos machos, a função básica da indução hormonal é o aumento do volume de sêmen, que está mais associado com uma maior fluidez do sêmen produzido. Os reprodutores de tambaqui sem indução hormonal liberam apenas uma pequena quantidade de sêmen (aproximadamente 0,5 mL), o que não seria suficiente para fertilização dos ovócitos, tendo em vista que as fêmeas liberam grande quantidade de ovócitos (aproximadamente 100 mil ovócitos /kg de peso vivo).

A indução reprodutiva dos peixes reofílicos geralmente é realizada uma única vez no período reprodutivo, sendo necessário pesquisas para o estabelecimento de protocolos de utilização de reprodutores de tambaqui mais de uma vez no mesmo período reprodutivo. Neste contexto, objetivou-se avaliar as características quantitativas e qualitativas do sêmen de tambaqui em coletas sucessivas na mesma estação reprodutiva.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Tambaqui *Colossoma macropomum*

O tambaqui (Figura 1) possui corpo romboidal com escamas, nadadeira adiposa com presença de raios na extremidade, rastros branquiais em grande quantidade, boca prognata com dentes molariformes e sua coloração na parte superior parda e na parte inferior preta, podem variar de acordo com a coloração da água (ARAÚJO-LIMA & GOULDING, 1998). Apresenta hábito alimentar onívoro (FURUYA, 2001) e é considerado o segundo maior peixe de escama da América do Sul, chegando a atingir 90 cm e 30 Kg (LOPERA-BARRERO et al., 2011), classificado taxonomicamente da seguinte forma: Reino Animalia, Classe Osteichthyes, Sub-Classe Actinopterygii, Ordem Characiformes, Família Characidae, Sub-Família Serrasalminae, Gênero *Colossoma*, Espécie *Colossoma macropomum* (NELSON, 1984).



Figura 1 - Macho de tambaqui utilizado durante o experimento (Arquivo pessoal, 2014).

Considerado um dos peixes mais importantes da piscicultura brasileira, o tambaqui é encontrado especialmente nas regiões Norte, Nordeste e Centro Oeste (MUNIZ et al., 2008; LOPERA-BARRERO et al., 2011), nas bacias dos Rios Amazonas, Orinoco e Solimões. É o peixe mais produzido na Região Amazônica, e se alimenta de zooplânctons, frutos e sementes (GOULDING & CARVALHO, 1982; CLARO JR et al., 2004), com fácil obtenção de juvenis, bom potencial de crescimento, alta produtividade e rusticidade (BALDISSEROTTO & GOMES, 2010).

2.2. Biologia reprodutiva

A reprodução é considerada o processo biológico mais importante dos organismos, pois através dela é possível à sobrevivência e perpetuação das espécies e, desta forma, proporciona o controle reprodutivo dos organismos em condições de confinamento, e é um dos meios de maior importância para garantir o sucesso da piscicultura (ROMAGOSA, 2003).

Segundo Woynarovich & Horváth (1983), os reprodutores são considerados peixes sexualmente maduros, quando podem ser utilizados para reprodução artificial ou seminatural podendo variar entre as espécies. Na piscicultura, o tambaqui atinge a maturidade sexual entre três e quatro anos, quando alcançam aproximadamente 55 cm (ARAÚJO LIMA & GOULDING 1998; SANTOS et al., 2006).

Por ser uma espécie reofílica, em ambiente natural apresenta migração durante o período de seca e desova no início da estação chuvosa (BALDISSEROTTO & GOMES, 2010), no período de outubro a março, com maior concentração nos meses de novembro a fevereiro (MUNIZ, et. Al., 2008), tendo a desova regulada de acordo com os fatores externos

que determinam o melhor período como: variação na temperatura, fotoperíodo e pH entre outras variáveis (ZANUY & CARRILLO, 1987).

Os fatores ambientais e a migração realizada pelos peixes ocasionam a queima de reserva energética devido ao grande esforço físico, fazendo com que ocorra a maturação gonadal que irá desencadear estímulos hormonais resultando quase sempre em uma desova (ZANIBONI-FILHO & NUÑER, 2004; BALDISSEROTTO & GOMES, 2010). Se as condições ambientais não forem suficientes para que os ovócitos se desenvolvam, o animal permanecerá em uma fase de dormência até que alguns dos fatores ambientais ocorram ou que os ovócitos sejam reabsorvidos (WOYNAROVICH & HORVÁTH, 1989).

Em ambiente de cultivo, ocorre restrição dos fatores ambientais, afetando diretamente o processo reprodutivo, suprimindo de alguma forma a ação dos hormônios responsáveis pela desova. Embora o desenvolvimento gonadal aconteça, o desenvolvimento final de maturação não ocorre devido às restrições, sendo necessária a indução através de hormônios exógenos comumente aplicados como, por exemplo, o extrato bruto de hipófise de carpas (ZOAR & MYLONAS, 2001).

2.3. Reprodução induzida

A reprodução artificial depende da utilização de hormônios para induzir a liberação de gametas, de modo que fêmeas e machos completem seu ciclo reprodutivo em condições controladas. A eficiência reprodutiva depende de um adequado manejo reprodutivo, que consiste na forma correta de captura e escolha dos peixes, posologia do hormônio e características da água.

Os primeiros trabalhos de indução hormonal em peixes reofílicos foram realizados na década de 30 paralelamente no Brasil por Rofolfo Von Ihering conhecido como o “Pai da Piscicultura Brasileira” e na Argentina por Bernardo Houssay quando foram obtidos resultados positivos de indução à maturação final e desova de peixes migradores, a partir da aplicação de hormônios naturais presentes na hipófise de peixes maduros (ZANIBONI & WEINGARTNER, 2007).

A indução à desova ocorre somente no período em que os animais estiverem aptos a reprodução, para isso é importante conhecer a biologia reprodutiva e comportamental da espécie que pretende estudar (CASTAGNOLLI, 1992). Peixes que não estão sexualmente maduros, a reprodução poderá não ser eficiente, podendo inclusive provocar a mortalidade dos peixes.

A reprodução artificial é otimizada pela indução hormonal, pois ela facilita a maturação final e a liberação dos gametas na maior parte das espécies mantidas em ambiente de cultivo e permite uma maior eficiência do processo em condições laboratoriais (CARNEIRO & MIKOS, 2008). Sendo assim, este processo funciona como um complemento da quantidade de gonadotrofina produzida pelo organismo receptor, substituindo a quantidade que deixou de ser produzida devido à ausência das condições ambientais favoráveis (ZANIBONI & WEINGARTNER, 2007).

O extrato bruto de hipófise de carpa tem sido utilizado com sucesso em várias espécies de peixes reofílicos, tais como: tambaqui (*C. macropomum*), pacu (*P. mesopotamicus*), matrinxã (*B. cephalus* e *B. orbignyanus*), dourado (*S. maxillosus*), curimatás (*P. scrofa* e *P. affinis*), piapara (*L. elongatus*), piauí (*L. friderici*), jundiá (*R. quelen*) e lambaris (*Astyanax* sp) (BALDISSEROTTO, 2009).

Em geral têm-se utilizado nas fêmeas dosagens de 0,5 e 5,0 mg/kg de peso vivo, sendo a primeira dose para estimular a migração da vesícula germinal e 12 horas depois, aplica-se a segunda dose para induzir a quebra da vesícula germinal, ovulação e desova. Os machos geralmente recebem uma única dose (2,5 mg/kg de peso vivo) no momento da segunda aplicação das fêmeas, proporcionando com que ocorra o aumento do volume seminal (WOYNAROVICH & HORVÁTH, 1983).

Desde o início de 1990 foram obtidos resultados positivos de indução hormonal à maturação final e desova de vários peixes migradores brasileiros, através da utilização do extrato bruto de hipófise de carpa, conhecida como técnica de “hipofisação”, e esta continua sendo uma das alternativas mais utilizadas para induzir a reprodução de peixes em todo o mundo (ZANIBONI & WEINGARTNER, 2007).

Os protocolos reprodutivos atuais são praticamente os mesmos da década de 70, com pequenas variações entre espécies e localidades, sendo que ainda existem muitos gargalos em relação aos aspectos reprodutivos, tais como idade à maturação sexual e intensidade de utilização de reprodutores e matrizes no mesmo período reprodutivo. A utilização de reprodutores mais de uma vez no período reprodutivo permite aumentar a intensidade de utilização destes, o que é de grande importância, quando iniciar de forma mais efetiva a exploração das linhagens melhoradas de tambaqui. Além disso, com esta prática será possível trabalhar com menor número de reprodutores, visando melhorar as condições de manutenção destes e diminuir custo com a otimização do espaço e menor custo de ração.

2.4. Morfologia testicular

O sistema reprodutor masculino (Figura 2) do tambaqui é formado pelas gônadas (testículos) (VIVEIROS et al., 2011), que são em número par e estão dispostos longitudinalmente no interior da cavidade celomática tendo como principais funções a produção de hormônios esteróides e os espermatozoides.

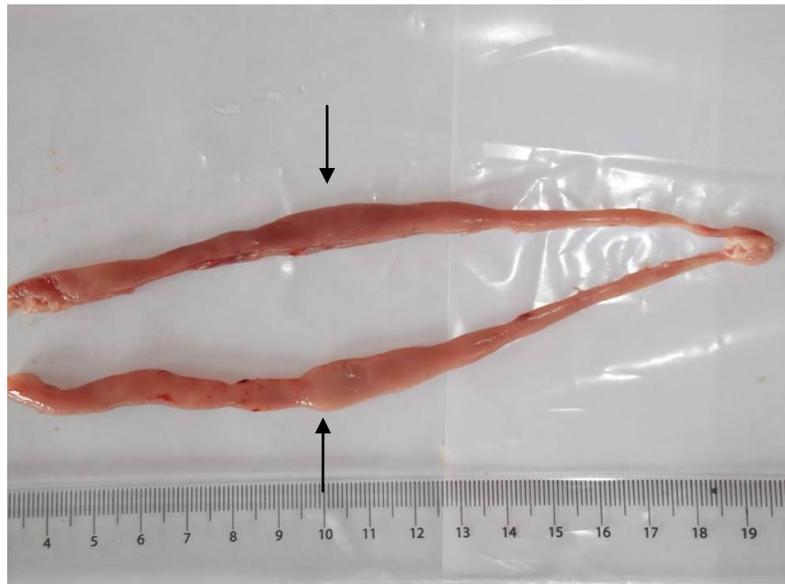


Figura 2 – Testículo de tambaqui, setas em preto mostram os testículos (Arquivo pessoal, 2014).

2.5. Características seminais/ espermáticos

A avaliação das características seminais é de grande importância na fecundação dos peixes, pois dela depende a eficiência reprodutiva. Desta forma torna-se imprescindível conhecer as características qualitativas e quantitativas do sêmen, a fim de aumentar sua capacidade reprodutiva em sistemas de produção (VERMA et al., 2009).

2.5.1. Volume seminal

O volume seminal pode variar entre as espécies e até mesmo na mesma espécie, podendo ser influenciado pela estação do ano, clima, período de repouso sexual e método de coleta (MURGAS, 2011).

O aumento do volume seminal está diretamente ligado à utilização de tratamento hormonal que faz com que ocorra um aumento significativo (VIEIRA et al., 2011; VIVEIROS & GODINHO, 2009). Sem este tratamento o tambaqui, assim como a maioria dos peixes,

libera um volume muito pequeno (normalmente menos que 0,5 mL), que seria insuficiente para uma boa fertilização. O baixo volume de sêmen após a indução hormonal pode estar relacionado com alguma disfunção (MYLONAS et al., 2010), alimentação ou época da estação reprodutiva (ASTURIANO et al., 2001; ALAVI et al., 2009).

2.5.2. Características Espermáticas

Os espermatozoides da maior parte dos peixes teleósteos são imóveis no trato genital masculino e só são ativados depois de entrar em contato com uma solução ativadora. Com o contato do sêmen com esta solução a estrutura do flagelo é rapidamente desorganizada e o espermatozoide torna-se imóvel em menos de dois minutos (BILLARD et al., 1995; KIME et al., 2001), quando perdem a capacidade de fecundar o óvulo (CARNEIRO, 2007).

A ativação dos espermatozoides é ocasionada pelo estresse osmótico ao qual foi submetido, sendo que isso ocorre em meio hipotônico para peixes de água doce e hipertônico para peixes de água salgada (HOLT & VAN LOOK, 2004).

Os espermatozoides dos peixes que apresentam fecundação externa não possuem acrossoma, uma vez que não precisam romper a barreira celular, tendo em vista que a penetração no ovócito ocorre através da micrópila (KIME et al., 2001; COSSON, 2004).

2.5.3. Morfologia Espermática

A morfologia espermática é um fator muito importante na qualidade do sêmen, pois está relacionada com a infertilidade afetando diretamente a capacidade de fertilização (LAHNSTEINER et al., 1998; KAVAMOTO et al., 1999). As alterações da estrutura das membranas impede que ocorra a fecundação.

Segundo Streit Jr. et al. (2006), os espermatozoides são classificados de acordo com a sua morfologia, sendo espermatozoides normais, com alterações graves ou primárias (cauda quebrada; cauda enrolada; cauda degenerada; cauda curta; cauda abaxial; cauda bifurcada e trifurcada; cauda corrugada; edema de colo; microcefalia; macrocefalia; duas cabeças, duas caldas, cabeça delgada, raquitiforme e periforme) e alterações leves ou secundárias (cauda dobrada; cauda solta; cabeça solta; gota citoplasmática distal e proximal).

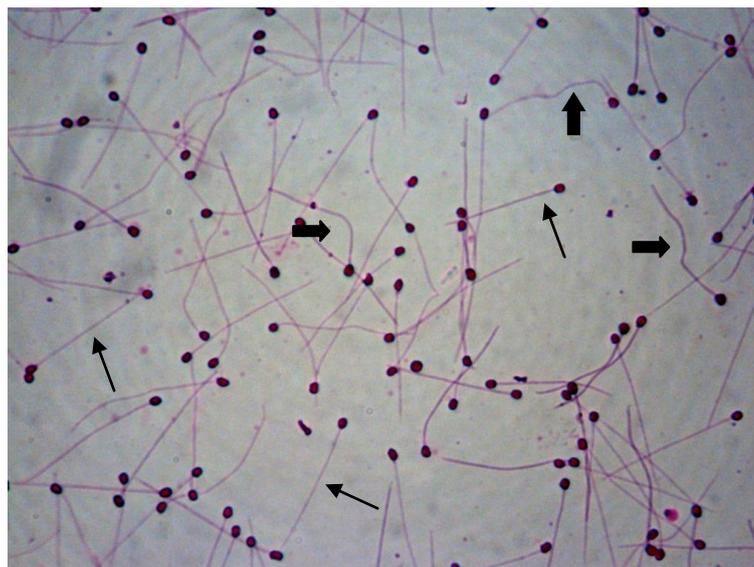


Figura 3 – Morfologia espermática do tambaqui, setas finas mostram espermatozoides normais, setas grossas mostram espermatozoides com patologias (Arquivo pessoal, 2014).

2.5.4. Motilidade

A motilidade é o fator mais utilizado para avaliar a qualidade espermática entre as espécies (BILLARD et al., 1995) e é usualmente expressa pela porcentagem de espermatozoides móveis no sêmen ativado (MOJICA, 2004), variando de acordo com cada espécie, mas em geral dura menos de dois minutos (RURANGWA et al., 2004).

Os espermatozoides de peixes são imóveis nos testículos e sua mobilidade inicia-se quando são expostos ao ambiente aquático ou no trato reprodutivo da fêmea (COWARD et al., 2002). Segundo o Dziewulska et al. (2011), a taxa de motilidade dos espermatozoides e a velocidade espermática apresentam uma correlação positiva em relação ao sucesso da fertilização, pois os espermatozoides em maiores velocidades de movimentação promoveram maiores taxas de fertilização do ovócitos.

2.5.5. Concentração Espermática

A concentração espermática é normalmente expressa em quantidade de espermatozoides por mL de sêmen, sendo considerado um parâmetro fundamental na rotina de avaliação seminal (FELIZARDO et al., 2010). Porém esses valores podem variar de acordo com peso e idade do peixe, época do ano (SILVA et al., 2009), frequência de coleta e volume do ejaculado (MURGAS et al., 2011), sendo possível controlar e melhorar as taxas de fertilização (FOGLI DA SILVEIRA et al., 1987; SANCHES et al., 2011).

A concentração espermática em espécies de peixes de água doce é bem variável, de acordo com alguns autores: dourado *Salminus maxillosus* 15,92 bilhões (STREIT JR et al., 2008), matrinxã *Brycon cephalus* 9,6 bilhões (NINHAUS-SILVEIRA et al., 2006), tambaqui *Colossoma macropomum* 9,1 bilhões (MARIA et al., 2010), carpa capim *Ctenopharyngodon idella* 30,0 bilhões (VERMA et al., 2009) e jundiá *Rhamdia quelen* 48,2 bilhões (SOARES et al., 2010). Geralmente estas variações ocorrem devido aos fatores ambientais, manejo, época, alimentação e a utilização ou não de hormônios.

2.5.6. Sobrevivência Espermática

A sobrevivência espermática está diretamente relacionada com a taxa de motilidade, e são avaliadas com soluções corantes como a nigrosina (5%) e eosina amarela (3%). Permite avaliar a integridade da membrana espermática de modo que as células que estiverem vivas permaneçam brancas e as que estão mortas se tornam permeáveis ao corante ficando rosadas (KAVAMOTO & FOGLI DA SILVEIRA, 1986).

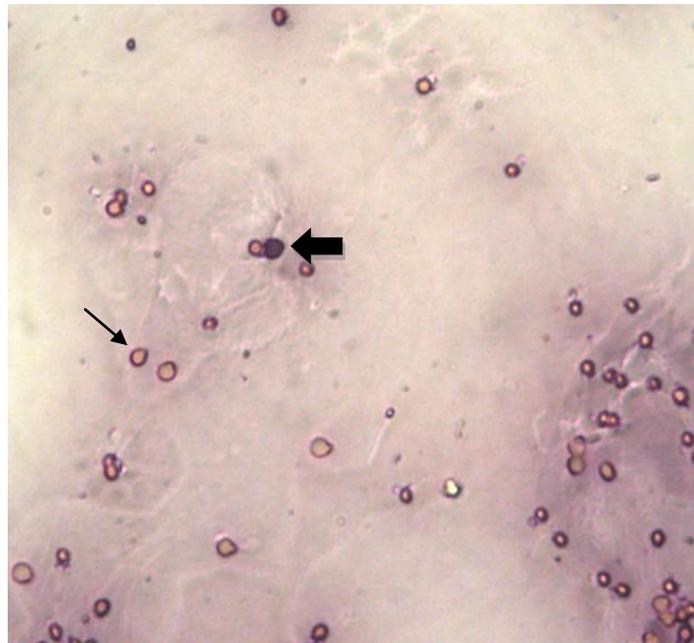


Figura 4 – Sobrevivência espermática do tambaqui, seta fina mostra espermatozoide vivo, seta grossa mostra espermatozoide morto (Arquivo pessoal, 2014).

2.5.7. Computer Assisted Sperm Analysis (CASA)

O programa Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) é um software utilizado para visualizar, digitalizar e analisar imagens sucessivas, proporcionando informações precisas e significativas do movimento individual de cada célula bem como de subpopulações de células espermáticas (AMANN & KATZ, 2004), obtendo uma avaliação objetiva do movimento e da velocidade, pois a fertilidade dependerá destas características (RURANGWA et al., 2004).

O CASA é uma importante ferramenta que apresenta utilização válida em várias espécies animais como bovina e suína, todavia, esta ferramenta não está padronizada para a maioria das espécies de peixes, embora permita quantificar de forma rápida e objetiva a motilidade dos espermatozoides e sua capacidade de fertilização (RURANGWA et al., 2004; VERSTEGEN et al., 2002).

Em busca de tentativas para minimizar os efeitos da avaliação subjetiva das características espermáticas, a utilização de avaliações computadorizadas tem sido atualmente aplicadas (VERSTEGEN et al., 2002; QUINTERO-MORENO et al., 2003). Por meio do software CASA é possível analisar uma grande quantidade de características através da qual se é possível mensurar a cinética espermática, permitindo uma maior objetividade e rapidez, uma vez que esta é realizada em um tempo bem menor que o requerido pela avaliação subjetiva (MOTIMER, 1997).

Segundo Verstegen et al. (2002); Wilson-Leedy & Ingermann (2007) e Salmito-Vanderley et al. (2014):

- **Velocidade curvilínea (VCL- $\mu\text{m/s}$):** é a velocidade da trajetória real do espermatozoide, apresenta-se sempre superior dentre todas as velocidades, sendo elemento para o cálculo da linearidade.

- **Velocidade média de deslocamento (VAP- $\mu\text{m/s}$):** Apresenta-se semelhante a VSL nos casos em que a trajetória da cabeça do espermatozoide se faz muito regular e linear apresentando baixo movimento lateral, por outro lado quando apresenta-se muito irregular, não linear ou com um elevado movimento lateral ela se torna superior que a VSL.

- **Velocidade em linha reta (VSL- $\mu\text{m/s}$):** medida por meio do estabelecimento de uma linha reta entre o primeiro e o último ponto da trajetória do espermatozoide, sendo sempre a de menor valor entre as velocidades.

- **Frequência de batimentos cruzado (BCF-Hz)**: está relacionado com o número de vezes em que a cabeça do espermatozoide cruza a direção do movimento. Sendo subestimada sempre que houver um número maior de batimentos/segundos do que imagens/segundos.

- **Retilinearidade (STR-%)**: É a relação percentual entre VSL e VAP. Permite estimar a proximidade do percurso da célula a linha reta.

Atualmente as análises subjetivas têm sido questionadas devido à variação que podem proporcionar dependendo do observador, enquanto o sistema computadorizado independe de análise subjetiva e, portanto, tem uma maior precisão. Todavia, a utilização do CASA para análises necessita de equipamentos de maior custo em relação as análises subjetivas.

REFERÊNCIAS

- ALAVI, S.M.H.; PSENICKA, M.; POLICAR, T.; RODINA, M.; HAMÁCKOVÁ, J.; KOZÁK, P.; LINHART, O. Sperm quality in male *Barbus barbus* L. fed different diets during the spawning season. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.35, p.683-693. 2009.
- AMANN, R.P.; KATZ, D.F. Reflections on CASA after 25 years. **Journal of Andrology**, v.25, p.317-325, 2004.
- ARAÚJO-LIMA, C.; GOULDING M. **Os frutos do tabaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Tefé: Sociedade Civil Mamirauá, p.187, 1998.
- ASTURIANO, J.F.; MARCO-JIMÉNEZ, F.; PEÑARANDA, D.S.; GARZÓN, D.L.; PÉREZ, L.; VICENTE, J.S.; JOVER, M. Effect of sperm cryopreservation on the European Eel sperm viability and spermatozoa morphology. **Reproduction in Domestic Animals**, v.42, p.162-166. 2007.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia aplicada à piscicultura: Fisiologia aplicada à piscicultura**. Santa Maria: UFSM, p.352, 2009.
- BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2.ed. Santa Maria, Ed UFSM, p.608, 2010.
- BILLARD, R., COSSON, J., CRIM, L.W., SUQUET, M. Sperm Physiology and Quality in: Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Eds. Bromage, N. R. and Roberts, R.J. **Blackwell Science**. 424 p, 1995
- BILLARD, R.; COSSON, J.; PERCHEC, G.; LINHART, O. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. **Aquaculture**, v.129, n.1-4, p.95-112, 1995.
- BRASIL - Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da Pesca e Aquicultura**, Brasília, p. 60, 2013.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. 2012. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**, Brasília, p.129, 2010 a 2011.
- CARNEIRO, P.C.F. Tecnologias de produções e armazenamentos de sêmen de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.361-366, 2007.
- CASTAGNOLLI, N. **Piscicultura de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, p.189, 1992.
- CLARO-JR, L.; FERREIRA, E.; ZUANON, J.; ARAÚJO-LIMA, C. O efeito da floresta alagada na alimentação de três espécies de peixes onívoros em lagos de várzea da Amazônia Central, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 34, n.1, p. 133-137, 2004.
- COSSON, J. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. **Aquaculture International**, v.12, p.69-85. 2004.

COWARD, K.; BROMAGE, N.R.; HIBBITT, O.; PARRINGTON, J. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.12, p.33-58, 2002.

DZIEWULSKA, K.; RZEMIENIECKI, A.; CZERNIAWSKI, R.; DOMAGALA, J. Post-thawed motility and fertility from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) sperm frozen with four cryodiluents in straws or pellets. **Theriogenology**, v. 76, p. 300-311, 2011

FELIZARDO, V.O.; MELLO, R.A.; MURGAS, L.D.S.; ANDRADE, E.S.; DRUMOND M.M.; ROSA, P.V. Effect of cryopreservant combinations on the motility and morphology of curimba (*Prochilodus lineatus*) sperm. **Animal Reproduction Science**, v.122, p.259-263, 2010.

FOGLI DA SILVEIRA, W.; KAVAMOTO, E. T.; RIGOLINO, M. G.; TABATA, Y. A. O método espectrofotométrico na avaliação da concentração de espermatozoides da truta arco-íris, *Salmo irideus* Gibbons. **Boletim do Instituto de Pesca**. v. 14, p. 69-73, 1987.

FURUYA, W.M. Espécies nativas. In: Moreira HLM et al. **Fundamentos da moderna aquicultura**. Canoas: ULBRA, Cap. 10, p. 83-90, 2001.

GOULDING, M.; CARVALHO, M.L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de zoologia**, v1, n.2, p.107-133, 1982.

HOLT, W.V.; VAN LOOK, K.J.W. Concepts in sperm heterogeneity, sperm selection and sperm competition as biological foundations for laboratory tests of semen quality. **Reproduction**, v.127, p.527- 535, 2004.

KAVAMOTO, E.T.; BARNABE, V.H.; CAMPOS, B.E.S.; ANDRADE TALMELLI, E.F. Anormalidades morfológicas nos espermatozoides do curimatá, *Prochilodus lineatus* (Steindachner, 1881) (Osteichthyes, Characiformes, Prochilodontidae). **Boletim do Instituto de Pesca**. v. 25, p. 61-66, 1999.

KAVAMOTO, E.T.; FOGLI DA SILVEIRA, W. Características físicas, químicas e microscópicas do sêmen do bagre *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) em condições de campo. **Boletim do Instituto de Pesca**. v.13, n.1, p.95-100, 1986.

KIME, D.E.; VAN LOOK, K.J.W.; MCALLISTER, B.G.; HUYSKENS, G.; RURANGWA, E.; OLLEVIER, F. Computer-assisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v.130, p.425-433, 2001.

LAHNSTEINER, F.; BERGER, B.; WEISMANN, T.; PATZNER, R.A. Determination of sêmen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminal plasma parameters, and spermatozoal metabolism. **Aquaculture**. v. 163, n.1-2, p.163-181, 1998.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; MENDEZ, L.V.; POVEDA-PARRA, A.R. **Produção de organismos aquáticos: uma visão geral no Brasil e no mundo**. Guaíba: Agrolivros, p.320, 2011.

MARIA, A.N.; AZEVEDO, H.C.; SANTOS, J.P.; SILVA, C.A.; CARNEIRO, P.C.F. Semen characterization and sperm structure of the Amazon tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Journal of Applied Ichthyology**, v.26, p.779- 745 783. 2010

MOJICA, C. A. P. Análise ultraestrutural e avaliação do sêmen de peixes neotrópicais, *Brycon orbignyanus*, *Rhamdia quelen* e *Brycon hilarii* (Pisces, Teleostei). 2004. 82f. **Dissertação** (Mestre em Aquicultura) – Universidade Estadual de São Paulo, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2004.

MORTIMER, S.T. A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. **Human Reproduction Update**, v. 3, p. 403-439, 1997.

MUNIZ, J.A.S.M.; CATANHO, M.T.J.; SANTOS, J.G.; Influência do fotoperíodo na reprodução induzida do Tambaqui, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, p.205-211. 2008.

MURGAS, L.D.S.; FELIZARDO, V.O.; FERREIRA, M.R.; ANDRADE, E.S.; VERAS, G.C. Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.35, n.2, p.186-191, 2011.

MURGAS, L.D.S.; FELIZARDO, V.O.; FERREIRA, M.R.; ANDRADE, E.S.; VERAS, G.C. Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, p.186-191, 2011.

MYLONAS, C.C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and Comparative Endocrinology**, v.165, p.516-534. 2010.

NELSON, J.S. **Fishes in the world**. 2nd Edition. A wile interscience Publication. John Wiley & Sons, New York. 1984.

NINHAUS-SILVEIRA, A.; FORESTI, F.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R.; SENHORINI, J.A. Seminal analysis, cryogenic preservation, and fertility in matrinxã fish, *Brycon cephalus* (Günther, 1869). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, p.651-659. 2006.

QUINTERO-MOREN, A.; MIRÓ, J.; TERESA RIGAU, A.; RODRÍGUEZ-GIL, J.E. Identification of sperm subpopulations with specific motility characteristics in stallion ejaculates. **Theriogenology**, v.59, p.1973-1990, 2003

ROMAGOSA, E. Reprodução induzida em peixes tropicais. **In.: Congresso de Integração em Biologia da Reprodução**. Resumos abstracts. p.59, 2003.

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

SANCHES, E. A.; MARCOS, R. M.; BAGGIO, D. M.; TESSARO, L.; BALEN, R.E.; BOMBARDELLI, R.A. Estimativa da concentração espermática do sêmen de peixe pelo método de espermátocrito. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n. 6, p. 1163-1167, 2011.

SALMITO-VANDERLEY, C.S.B.; PINHEIRO, J.P.S.; ALMEIDA, P.S.; LOPES, J.T.; LEITE, L.V. Metodologias para criopreservação e mecanismos de avaliação do sêmen de peixes characiformes. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, p. 343-350, 2014.

SANTOS, G.; FERREIRA, E.; ZUANON, J. **Peixes comerciais de Manaus**. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis/ProVárzea, p.237, 2006.

SILVA, J.M.A.; MURGAS, L.D.S.; FELIZARDO, V.O.; PEREIRA, G.J.M.; NAVARRO, R.D.; MELLO, R.A. características seminais e índices reprodutivos de curimba (*Prochilodus lineatus*) em diferentes períodos reprodutivos. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.10, p.668-677, 2009.

SOARES, F.A.C.; STREIT JUNIOR, D.P.; EBERT A.R.; COLDEBELLA, I.J.; OBERS, E.R. Parâmetros qualitativos do sêmen de jundiá (*Rhamdia quelen*) no inverno e na primavera. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.17, p.129-133, 2010.

STREIT JUNIOR, D.P.; RIBEIRO R.P.; MORAES, G.V.; GALLO, J.M.; DIGMAYER, M.; MENDEZ, L.V.; POVH, J.A. Características qualitativas do sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após indução hormonal. **Bioscience jornal**, v.22, p.119-125, 2006.

STREIT JR., D. P.; SIROL, R.N.; RIBEIRO, R.P.; MORAES, G.V.; GALO, J.M.; DIGMAYER, D. Parâmetros qualitativos do sêmen de dourado (*Salminus maxillosus*) em cativeiro. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.34, p.337-344, 2008.

VERSTEGEN, J.; OUADA, M. I.; OCLIN, K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, v.57, p.149-179, 2002.

VERMA, D.K.; ROUTRAY, P.; DASH, C.; DASGUPTA, S.; JENA, J.K. Physical and biochemical characteristics of semen and ultrastructure of spermatozoa in six carp species. **Turkish Journal Fisheries and Aquatic Sciences**, v.9, p.67-76, 2009.

VIEIRA, M.J.A.F.; CARVALHO, M.A.M.; SALMITO-VANDERLEY, C.S.B.; SALGUEIRO, C.C.M.; VIVEIROS, A.T.M.; MOURA, A.A.A.N.; NUNES, J.F. Características do sêmen de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em latitude equatorial. **Archivos de zootecnia**, v.60, n.232, p.1263-1270, 2011.

VIVEIROS, A.T.M.; GODINHO, H.P. Sperm quality and cryopreservation of Brazilian freshwater fish species: a review. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.35, p.137-150, 2009.

VIVEIROS, A.T.M.; LEAL, M.C.; SALLUM, W. B. **Reprodução das Principais Espécies de Peixes Nativos**. Lavras: UFLA/FAEPE, p.94, 2011.

WILSON-LEEDY, J.G.; INGERMANN, R.L. Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. **Theriogenology**, v. 67, p. 661–672, 2007.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, p.225, 1983.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. Propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão. Brasília: **FAO/CODEVASF/CNPQ**, 1989.

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALLOSSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. p.45-73, 2004.

ZANIBONI-FILHO, E.; WEINGARTNER, M. 2007. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.31, p.367-373, 2007.

ZANUY, S.; CARRILLO, M. **La reproducción de los teleosteos y su aplicación em acuicultura: plan de formación de técnicos superiores em acuicultura**. p.318, 1987.

ZOHAR, Y.; MYLONAS, C.C. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. **Elsevier Aquaculture**, v. 197, p. 99-136. 2001.

ARTIGO

Características espermáticas de tambaqui em diferentes intervalos na mesma estação reprodutiva

Resumo

A utilização de reprodutores de espécies reofílicas mais de uma vez no período reprodutivo, prática incomum devido à ausência de protocolos, permite aumentar a intensidade de utilização destes, o que é de grande importância visando aumentar a utilização dos peixes de maior valor genético. Objetivou-se avaliar as características qualitativas e quantitativas do sêmen de tambaqui em coletas sucessivas na mesma estação reprodutiva. O experimento foi conduzido em uma piscicultura comercial no Estado de Mato Grosso - MT, (13° 51' 57,2" e 56° 11' 30,2") no período de setembro de 2014 a fevereiro de 2015. Foram utilizados seis reprodutores (6,43±1,48 kg). Para indução reprodutiva foi utilizado 2,5 mg de extrato de hipófise de carpa/kg aplicado na base da nadadeira pélvica em dose única. O sêmen foi coletado após um período de ±240 horas-grau (soma da temperatura de hora em hora) (24 – 26°C), em seringas graduadas. Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados, onde cada peixe foi considerado um bloco e as coletas, os tratamentos. Os resultados obtidos mostram que o volume de sêmen coletado diminuiu ao longo das coletas; a concentração espermática e motilidade se mantiveram em todas as coletas; e a velocidade em linha reta e progressão foram maiores na segunda coleta. Sendo assim conclui-se que qualidade do sêmen foi mantida nas duas primeiras coletas, sendo que a redução de algumas características na qualidade do sêmen na terceira coleta pode estar relacionado ao final do período, entretanto, indica que os reprodutores podem ser utilizados mais de uma vez durante o período reprodutivo.

Palavras-chave: *Colossoma macropomum*, reprodução induzida de peixes, peixes reofílicos

1. Introdução

O tambaqui é filtrador, apresenta hábito alimentar onívoro com tendência ao frugívoro, reofílico, sendo considerado o segundo maior peixe de escama da América do Sul, podendo atingir até 90 cm e 30 kg na natureza [10,12]. Este peixe é oriundo da bacia

amazônica, e apresenta larga distribuição nos rios Solimões, Madeira e Orinoco e seus afluentes, sendo que a reprodução deste na natureza normalmente ocorre nos meses de outubro a março, com maior concentração nos meses de novembro a fevereiro.

As espécies reofílicas realizam migrações nos rios para se reproduzir [9], porém quando criado em piscicultura a ausência de migração não proporciona a maturação final dos gametas, impossibilitando a desova e liberação de sêmen. Embora a reprodução de espécies de interesse comercial já ocorra através de técnicas de indução hormonal que ocasionam o sucesso reprodutivo [13, 22 e 2], faz-se necessário a utilização de hormônios para que ocorra a reprodução [1]. O extrato de hipófise de carpa é o indutor reprodutivo mais utilizado atualmente nos peixes reofílicos.

O indutor reprodutivo extrato de hipófise de carpa possibilita o aumento do volume seminal [6], sendo que sem esta prática o número de espermatozoide é bastante reduzido na maioria das espécies reofílicas com, por exemplo, o tambaqui, proporcionando baixa taxa de fertilização. Dessa forma, esta técnica é imprescindível para a eficiência reprodutiva desta espécie.

A indução reprodutiva de machos com extrato de hipófise de carpa geralmente é realizada uma única vez no período reprodutivo devido a falta de informações e protocolos científicos sobre a reutilização dos reprodutores no mesmo período reprodutivo. O aumento da intensidade de utilização dos reprodutores poderia proporcionar o melhor aproveitamento dos peixes de maior potencial genético e diminuir os custos de produção para manutenção de um maior número de reprodutores na piscicultura. Objetivou-se avaliar as características qualitativas e quantitativas do sêmen de tambaqui em coletas sucessivas na mesma estação reprodutiva.

2. Material e Métodos

2.1. Local e Animais

O experimento foi conduzido na Piscicultura Buriti, localizada no município de Nova Mutum - MT (13° 51' 57,2" e 56° 11' 30,2"). Utilizaram-se seis reprodutores de tambaqui com aproximadamente quatro anos de vida, pertencentes ao plantel da piscicultura, com peso médio de $6,43 \pm 1,48$ kg.

Os reprodutores de tambaqui foram alocados em um tanque de 200 m², os quais foram alimentados duas vezes ao dia, até saciedade dos animais, com ração extrusada de 28% de proteína bruta (60 g/kg extrato Etéreo, 100 g/kg Matéria mineral, 280 g/kg proteína bruta, 30

g/kg cálcio, 8.000 mg/kg fósforo, e 100 mg/kg vitamina C) durante todo o período reprodutivo. Estes reprodutores foram utilizados no período reprodutivo de setembro a fevereiro de 2015.

2.2. Indução Hormonal

Para primeira indução reprodutiva foram selecionados reprodutores de tambaqui que liberavam sêmen após uma leve pressão abdominal conforme determinado por Streit Jr. et al. [19]. As demais induções reprodutivas (64 dias após a primeira indução e 86 dias após a segunda indução) os reprodutores utilizados na primeira reprodução foram novamente induzidos nas demais coletas sem critério de seleção.

Após a captura para indução reprodutiva os reprodutores foram transferidos para tanques de alvenaria (4 m³) no laboratório com renovação de água de 10 litros/segundo. Posteriormente foram pesados, identificados com microchip e induzidos à reprodução com extrato de hipófise de carpa. Foi utilizado a posologia de 2,5 mg de extrato bruto de hipófise de carpa/kg de peso vivo em uma aplicação única, conforme posologia recomendada por Woynarovich & Horváth [26].

O sêmen de todos os reprodutores de tambaqui foi colhido após um período de ± 240 horas-grau (soma da temperatura de hora em hora) (24 – 26°C). A fim de diminuir o estresse no momento da coleta do sêmen, os animais foram anestesiados com Eugenol (50 mg/L), conforme indicado para esta espécie [23] e aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Protocolo nº 643/2014). Posteriormente, os peixes foram contidos em uma mesa com uma toalha úmida, e a papila urogenital foi seca com papel-toalha. Em seguida, foi coletado o sêmen mediante pressão das gônadas no sentido céfalo-caudal, sendo descartada a primeira gota para evitar contaminação com água, urina ou sangue, conforme recomendado por Poupard et al. [15]. O sêmen foi coletado em seringas graduadas de 10 mL até a redução da liberação, evitando-se qualquer sinal de sangramento a fim de impedir contaminação, conforme protocolo descrito por Billard et al.[3].

As características espermáticas de tambaqui foram avaliadas em três coletas consecutivas na mesma estação reprodutiva, realizadas nos períodos de setembro, dezembro (64 dias após a primeira coleta) e fevereiro (86 dias após a segunda coleta) representando início, meio e fim da estação reprodutiva respectivamente.

2.3 Análises espermáticas

A morfologia espermática foi avaliada conforme Sanches et al. [18], na qual, utilizou-se 5 µL de sêmen fixados em 500 µL de formol salino tamponado (4,6%) e posteriormente corado em 10 µL de rosa de bengala. Duas gotas do material fixado foram adicionadas sobre a lâmina, as quais foram elevadas a um ângulo de 45° para a gotícula escorrer até a outra extremidade. A lâmina foi deixada horizontalmente até a secagem do material na sombra. Depois de secas, as lâminas foram levadas ao microscópio em magnitude de 400x, contando-se três campos com 200 espermatozoides por campo, somando-se 600 espermatozoides no total. Estes foram classificados como espermatozoides normais, com alterações graves ou primárias (cauda quebrada; cauda enrolada; cauda degenerada; cauda curta; cauda abaxial; cauda bifurcada e trifurcada; cauda corrugada; edema de colo; microcefalia; macrocefalia; duas cabeças, duas caldas, cabeça delgada, raquitiforme e periforme) e alterações leves ou secundárias (cauda dobrada; cauda solta; cabeça solta; gota citoplasmática distal e proximal) Streit Jr. et al. [20].

Para a avaliação da taxa de sobrevivência espermática, corou-se 25 µL de sêmen com 100 µL de eosina amarela (3%) e 100 µL nigrosina (5%) (Adaptado por Sanches et al.[18]). Após mistura, uma gotícula de 10 µL foi adicionada a uma lâmina e a partir dela realizou-se uma extensão do material, que depois de seco ao ar livre, foi analisado em microscópio de luz em magnitude de 400x. Realizou-se a estimativa de vivos através da contagem de três campos com 200 espermatozoides em cada, somando um total de 600 espermatozoides. Os brancos, (ou não corados pelo corante), foram considerados os vivos por serem impermeáveis ao corante, e os mortos, os rosados por absorverem o corante.

A concentração espermática foi avaliada conforme Sanches et al. [17] utilizando-se câmara hematimétrica de Neubauer. Para tanto, 5 µL de sêmen foram fixados em 500 µL de formol salino tamponado resultando em uma diluição de 1:500. Posteriormente o material foi agitado e adicionado na câmara por capilaridade sob a lamínula e esperou-se de 5 a 10 minutos para que os espermatozoides se assentassem no campo de contagem. Após contagem de células espermáticas presentes em dez quadrículas, realizou-se a estimativa conforme a seguinte fórmula:

$$CSPZ(SPZ.mL^{-1}) = \left(\frac{\sum SPZ}{10 \text{ q.c.}} \right) \times \frac{25 \text{ q.t.} \times \text{diluição} \times 1000}{\text{profundidade da câmara(mm)}}$$

em que:

CSPZ = concentração espermática

SPZ = espermatozoides;

Σ SPZ = número total de espermatozoides contados;

q.c. = quadrículas contadas;

q.t. = quadrículas totais; profundidade da câmara = 0,10 mm

diluição = fator de diluição do sêmen pelo fixador.

Os parâmetros de motilidade espermática computadorizados foram avaliados por meio da utilização do software livre IMAGEJ/Aplicativo CASA Wilson-Leedy e Ingermann [25] e Sanches et al. [18]. Os parâmetros avaliados foram: Taxas de motilidade espermática, velocidade curvilínea, velocidade média de deslocamento, velocidade em linha reta, retilinearidade, oscilação, progressão e frequência de batimento transposto. Para estas análises os espermatozoides foram ativados em água destilada na proporção de 1:250 (sêmen:água destilada) e, após a ativação, o material foi adicionado em uma câmara de Neubauer e analisado em microscópio de luz trinocula Solaris Bel (magnitude de 100x). Para captura das imagens foi utilizado câmera basler (AG 120gc) conectada ao computador (Intel core i7© CPU 2.4 GHz, 8Gb ram), e o tempo de movimento dos espermatozoides foram calculados com um cronômetro no próprio software utilizado para a captura dos vídeos (Balsler Pylon). Realizou-se a gravação de três vídeos para cada animal, aos quais foram posteriormente editados no software virtualDub 1,9,0 (VirtualDub.org) e salvos em formato jpg em uma pasta específica, para então serem avaliados pelo aplicativo CASA. As análises foram realizadas em 10 s após ativação de vídeos gravados a 100 fps (685x492 pixels), com a análise de um segundo de vídeo (100 imagens), com configurações adaptadas para a espécie.

Análise estatística

As análises das características seminais nas três coletas consecutivas no mesmo período reprodutivo foram analisadas em um delineamento em blocos casualizados, considerando cada peixe um bloco e as coletas os tratamentos. Estes dados foram submetidos a análise não paramétrica de Friedman, com teste de comparação múltipla não paramétrico semelhante à Tukey, a 5% de significância. Para essas variáveis analisadas é comum ocorrer dados extremos por isso a mediana seguida das somas dos postos representam melhor os resultados obtidos.

3. Resultados

Os valores das medianas e postos para o peso e características do sêmen dos reprodutores de tabaqui em três coletas no mesmo período reprodutivo encontram-se descritos na Tabela 01, e a cinética espermática encontra-se descritos na tabela 02. Pode-se observar que houve efeito significativo entre as coletas para as características volume do sêmen coletado, produção de espermatozoide total, taxa de sobrevivência, alterações morfológicas graves, velocidade em linha reta, retilinearidade e progressão.

Tabela 01. Valores medianos de peso e características quantitativas e qualitativas do sêmen de reprodutores de tambaqui (*C. macropomum*) submetidos a três coletas durante o período reprodutivo (setembro a fevereiro).

Características	Coletas			P valor
	(Coleta 01) 30/09/2014	(Coleta 02) 03/12/2014	(Coleta 03) 27/02/2015	
Peso reprodutores (kg)	6,48 (11,0) ^a	5,76 (9,0) ^a	6,50 (16,0) ^a	0,1146
Volume total de sêmen coletado (mL)	6,65 (17,00) ^a	3,40 (12,00) ^{ab}	1,0 (7,00) ^b	0,0155
Concentração espermática ($\times 10^9$ mL ⁻¹)	2,73 (8,00) ^a	4,56 (10,0) ^a	4,59 (12,0) ^a	0,4493
Total de espermatozoides no ejaculado ($\times 10^9$)	13,12 (14,00) ^a	11,41 (10,00) ^{ab}	4,26 (6,00) ^b	0,0408
Total de espermatozoides viáveis ($\times 10^9$)	7,35 (14,00) ^a	5,95 (10,00) ^{ab}	1,79 (6,00) ^b	0,0408
Taxas de sobrevivência (%)	98,09 (17,00) ^a	95,57 (13,00) ^{ab}	89,34 (6,00) ^b	0,0057
Taxas de espermatozoide normais (%)	76,92 (10,00) ^a	77,92 (10,00) ^a	83,09 (16,00) ^a	0,1353
Taxas de espermatozoide anormais (%)	23,09 (14,00) ^a	22,08 (14,00) ^a	16,92 (8,00) ^a	0,1353
Alteração morfológicas graves (%)	30,76 (7,00) ^a	47,56 (16,00) ^b	43,72 (13,00) ^{ab}	0,0302

Valores das somas dos postos (entre parênteses) na mesma linha seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de comparação múltipla não paramétrico semelhante à Tukey a de 5% de significância.

O peso dos reprodutores de tambaqui foi semelhante nas três coletas, com valores de mediana variando de 5,76 (segunda coleta) até 6,50 kg (terceira coleta). Dessa forma, o peso dos reprodutores na primeira reprodução (30/09/2014) foi mantido após 64 dias (03/12/2014) e após 86 dias (27/02/2015) com a segunda e terceira reprodução, respectivamente.

O volume seminal coletado foi superior na primeira coleta (6,65 mL) em relação a terceira (1,0 mL), sendo que a segunda (3,40 mL) não diferiu significativamente entre as demais coletas. A concentração espermática não diferiu estatisticamente entre as coletas, com mediana variando entre 2,73 a 4,59 bilhões de espermatozoides mL⁻¹. Estes resultados mostram que a concentração foi mantida mesmo com variação do volume seminal (6,65 a 1,00 mL).

O total de espermatozoides no ejaculado seguiu a mesma tendência que o volume total de sêmen coletado, onde a primeira coleta foi superior ($13,12 \times 10^9$) em relação a terceira ($4,26 \times 10^9$), sendo que a segunda ($11,41 \times 10^9$) não diferiu entre as demais coletas. O total de espermatozoides viáveis ($\times 10^9$) seguiu a mesma predisposição, sendo superior na primeira coleta ($7,35 \times 10^9$) em relação a terceira ($1,79 \times 10^9$), entretanto a segunda coleta ($5,95 \times 10^9$) não diferiu das demais.

A produção espermática total foi superior nas duas primeiras coletas ($13,12$ e $11,41$ sptz $\times 10^9$) em relação a terceira ($4,26$ sptz $\times 10^9$), sendo que a segunda e a terceira coleta não diferiram significativamente.

A taxa de sobrevivência dos espermatozoides na segunda coleta não diferiu entre a primeira e terceira coleta, porém a primeira coleta foi superior a terceira. A sobrevivência

espermática foi 2,52% e 6,23% maior em relação a segunda e terceira coletas, respectivamente.

A taxa de espermatozoides normais e anormais foi semelhante entre os tratamentos, com medianas variando de 76,92 a 83,9% e 16,92 a 23,09%, respectivamente. No entanto, a alteração morfológicas graves foi superior na primeira (30,76%) e terceira (43,72%) coletas em relação a segunda (47,56%), sendo que esta não diferiu significativamente da terceira coleta.

Tabela 02. Valores medianos da cinética espermática de reprodutores de tambaqui (*C. macropomum*) submetidos a três coletas durante o período reprodutivo (setembro a fevereiro).

Cinética espermática	Coletas			P valor
	(Coleta 01) 30/09/2014	(Coleta 02) 03/12/2014	(Coleta 03) 27/02/2015	
Motilidade espermática (%)	83,57 (7,00) ^a	96,47 (13,00) ^a	94,23 (10,00) ^a	0,1653
Velocidade curvilinear ($\mu\text{m s}^{-1}$)	100,50 (6,00) ^a	159,61 (12,00) ^a	159,83 (12,00) ^a	0,0907
Velocidade média de deslocamento ($\mu\text{m s}^{-1}$)	82,71 (6,00) ^a	130,72 (13,00) ^a	119,27 (11,00) ^a	0,0743
Velocidade em linha reta ($\mu\text{m s}^{-1}$)	63,94 (7,00) ^b	93,26 (15,00) ^a	65,13 (8,00) ^{ab}	0,0224
Retilinearidade (%)	72,60 (14,00) ^a	67,88 (10,00) ^{ab}	55,13 (6,00) ^b	0,0408
Oscilação (%)	69,80 (9,00) ^a	82,93 (12,00) ^a	78,14 (9,00) ^a	0,5488
Progressão (μm)	2445,80 (6,00) ^b	4126,94 (14,00) ^a	3191,7 (10,00) ^{ab}	0,0408
Frequência de batimento cruzado (Hz)	34,04 (13,00) ^a	26,06 (8,00) ^a	29,65 (9,00) ^a	0,2466

Valores das somas dos postos (entre parênteses) na mesma linha seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de comparação múltipla não paramétrico semelhante à Tukey a de 5% de significância.

A taxa de motilidade espermática na primeira coleta não diferiu entre a segunda e terceira coleta, sendo que estas apresentaram variações entre 83,57 a 96,47%. Da mesma forma, a velocidade curvilinear e velocidade média de deslocamento dos espermatozoides também não diferiram estatisticamente em nenhuma das coletas, sendo que os valores variaram de 100,50 a 159,83 $\mu\text{m s}^{-1}$ e 82,71 a 130,72 $\mu\text{m s}^{-1}$, respectivamente. Porém, a velocidade em linha reta foi superior na segunda (93,26 $\mu\text{m s}^{-1}$) e terceira (65,13 $\mu\text{m s}^{-1}$) coletas, sendo que esta não diferiu significativamente da primeira coleta (63,94 $\mu\text{m s}^{-1}$).

A retilinearidade dos espermatozoides na segunda (67,88%) coleta não diferiu estatisticamente da primeira (72,60%) e terceira (55,13%), sendo que esta foi inferior a primeira coleta, sendo a diferença entre as duas de 17,47%. Por outro lado, a oscilação do espermatozoide foi semelhante estatisticamente entre as coletas, com variações de 69,80 a 82,93%. A progressão foi superior na segunda (4126,94 μm) e terceiras (3191,7 μm) coletas, sendo que esta não diferiu significativamente da primeira (2445,80 μm). A frequência de

batimentos cruzados não diferiu entre as coletas, sendo que a variação destes foi de 26,06 a 34,04 Hz.

4. Discussão

A análise das características qualitativas e quantitativas do sêmen do tambaqui, assim como de outros peixes reofílicos de grande importância para aquicultura, reflete no sucesso reprodutivo. Dessa forma, o estabelecimento de protocolos específicos para estas espécies, assim como a determinação da viabilidade da utilização do reprodutor mais de uma vez no período reprodutivo, visando a otimização de reprodutores, são fundamentais para aquicultura.

Na primeira e segunda coleta foi obtido um grande volume de sêmen (mediana de 6,65 e 3,40 mL). O volume obtido para estas coletas foram próximos ao obtido por Leite et al. [11], os quais trabalhando com a mesma espécie em Pentecoste, Ceará (Clima tropical, usando o mesmo indutor e a mesma posologia utilizada no trabalho, e encontraram média de 4,50 mL; e por Vieira et al. [24], os quais observaram que nas mesmas condições do autor anterior (posologia um pouco menor - dose única de 2 mg/kg de peso vivo), encontraram média de 5,05 mL. Por outro lado, Maria et al. [13], trabalharam também com a mesma espécie, na região do São Francisco e Parnaíba, localizado em Neópolis – Sergipe (região tropical), com duas doses (0,25 e 2,50 mg/kg) do mesmo indutor, observaram maior média, 10,20 mL. Estes trabalhos apresentaram valores maiores ao obtido na terceira coleta (1,00 mL) indicando que o volume possa talvez ser aumento com uma segunda dose (dose preparatória de 10%), principalmente na terceira coleta de sêmen, que teve o volume de sêmen bem reduzido.

O volume de sêmen nos peixes pode ser influenciado por muitos fatores, tais como: peso, maturidade sexual, alimentação, posologia e quantidade de doses hormonais e técnica de colheita. No presente experimento a quantidade de coletas realizadas pode justificar o menor volume de sêmen na terceira coleta, tendo em vista que houve uma tendência de redução do volume na segunda coleta em relação a primeira. Outro efeito importante que deve ser considerado é o momento do período reprodutivo, sendo que na primeira e segunda coletas os peixes estavam no início e no “pico” do período reprodutivo, respectivamente, enquanto na última coleta os peixes estavam no final do período reprodutivo.

O ideal seria que o volume fosse mantido durante todo o período. Talvez a manutenção das condições ambientais na piscicultura (manutenção dos reprodutores em estufa) possa contornar esta situação e até mesmo permitir coletas contínuas ao longo do ano.

Além disso, é possível que um ajuste no intervalo entre as coletas e aumento da posologia ou doses hormonais possa proporcionar melhor eficiência. Outro aspecto importante consiste na recuperação dos reprodutores após as coletas. Estes foram submetidos à mesma condição durante todo experimento e, talvez, na fase de recuperação seja necessário uma suplementação nutricional.

Diferentemente do que foi observado para o volume, a concentração espermática não foi influenciada entre as coletas. Todavia, aparentemente existe uma tendência de diminuição na concentração quando aumenta muito o volume.

A concentração obtida nas três coletas (mediana de 2,73, 4,56 e 4,59 x 10⁹ spz mL⁻¹) foram inferiores ao obtido por Maria et al. [13], Maria et al. [14] e Leite et al. [11], os quais encontraram para o tambaqui concentração média de 9,10 ± 3,70 x 10⁹ spz mL⁻¹, 7,90 ± 2,40 x 10⁹ spz mL⁻¹ e 19,00 x 10⁹ spz mL⁻¹, respectivamente. A concentração espermática das coletas pode ter sido influenciada pelo momento do período reprodutivo, tendo em vista que na primeira coleta ocorreu no início do período reprodutivo da espécie e, talvez os peixes não estivessem totalmente preparados para reprodução; e nas demais coletas podem ter ocorrido efeito do intervalo na coleta e, no caso da última coleta, também pode ter ocorrido influência do momento do período reprodutivo. No entanto, as concentrações observadas podem ser consideradas adequadas para a situação experimental utilizada.

O total de espermatozoides no ejaculado e o total de espermatozoides viáveis diminuíram ao longo das coletas, sendo maiores nas duas primeiras coletas. Da mesma forma como exposto para o volume e a concentração, estes resultados indicam que pode ter ocorrido influência das duas primeiras coletas terem sido realizadas no início e meio do período reprodutivo e a terceira coleta ter ocorrido no final.

O número de espermatozoides obtido nas três coletas (mediana de 13,12 x 10⁹, 11,41 x 10⁹ e 4,26 x 10⁹, respectivamente) apresentou a mesma tendência do volume espermático, com maiores valores na primeira e segunda coletas, sendo que esta não diferiu significativamente da terceira.

Segundo Rurangwa et al. [16] a fertilização pode sofrer influência da dose inseminante (número de espermatozoide para cada ovócito) e do protocolo de fertilização utilizado. Leite et al. [11] recomendam dose inseminante para o tambaqui de 100 mil espermatozoides/ovócito. Bombardelli et al. [5], sugerem para o jundiá cinza (*Rhamdia quelen*), aproximadamente 9 x 10⁴ espermatozoide/ovócito. A dose inseminante adequada pode variar muito dependendo da espécie estudada, características da solução ativadora e da

qualidade do sêmen e das condições onde estão mantidos os animais, e portanto, dependendo das condições utilizadas para a fertilização é necessário maior ou menor volume de sêmen.

A maior sobrevivência de espermatozoides foi observada nas duas primeiras coletas (mediana de 98,09 e 96,57%). A redução na terceira coleta (mediana de 89,34%) pode ter ocorrido pelo fato de ter ocorrido no final do período reprodutivo, todavia, esta não diferiu significativamente da segunda coleta.

Embora a terceira coleta tenha apresentado menor porcentagem de sobrevivência de espermatozoides, este valor ainda pode ser considerado alto. Além disso, Maria et al. [13] utilizando a mesma técnica de coloração, onde as células vivas são impermeáveis ao corante, encontraram média de 97,00% de células viáveis, o que foi bem próximo ao obtido no trabalho nas três coletas. Esta característica indica alta porcentagem de espermatozoides viáveis para fertilização e, portanto, pode-se dizer que nas três coletas os espermatozoides apresentaram capacidade de fertilização.

Os resultados da morfologia espermática indicaram que os espermatozoides normais (mediana entre 76,92 a 83,09%) e anormais (mediana entre 16,92 a 23,09%) foram semelhantes a média obtida por Maria et al. [14] para o tambaqui, os quais encontraram médias de 85,00 e 15,00%, respectivamente. Os valores obtidos no presente trabalho não diferiram entre as coletas e foram obtidos resultados semelhantes em outro trabalho com o tambaqui e, portanto, pode-se sugerir as coletas não interferiam nas morfologias.

A diferença significativa observada para segunda coleta em relação a primeira para alterações morfológicas graves podem estar ligados a necessidade de um maior intervalo de recuperação entre as coletas, tendo em vista que este foi de 64 e 86 dias para o primeiro e segundo intervalo, respectivamente. De qualquer forma, a porcentagem de espermatozoides anormais (total) não mudou entre as coletas. O efeito do tipo de anormalidade na fertilização ainda é pouco estudado nos peixes.

De acordo com Cosson et al. [7] a motilidade está diretamente ligada a capacidade de fertilização, sendo que as alterações morfológicas podem reduzir os movimentos realizados pelos espermatozoides, interferindo na fertilização. Esta afirmação está de acordo com os resultados obtidos, levando em consideração que a motilidade foi semelhante entre os tratamentos (mediana entre 83,57 a 96,47%). A motilidade espermática obtida foi semelhante ao encontrado nos trabalhos de Maria et al. [13] e Maria et al. [14] com valores médios de 96,00% e 94,50%, respectivamente; e superior ao observado por outras espécies como, por exemplo, pacu com média de 76,80% [20] e piapara com média de 36,72% [21]. Os

resultados obtidos no presente trabalho mostram que os valores estão dentro do padrão observado para a espécie.

Além da análise da motilidade espermática obtida pelo programa CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*), este programa também foi utilizado para outras análises relacionadas a movimentação dos espermatozoides. Entre estas análises, a velocidade curvilinear (mediana entre 100,50 a 159,83 $\mu\text{m s}^{-1}$) e de velocidade média de deslocamento (mediana entre 82,71 a 130,72 $\mu\text{m s}^{-1}$), oscilação (mediana entre 69,80 a 82,93%) e frequência de batimento cruzado (mediana entre 26,06 a 34,04 Hz), as quais apresentaram o mesmo comportamento observado para a motilidade espermática. Dessa forma, estes resultados indicam que as características qualitativas do sêmen foram mantidas nas três coletas.

Embora as características velocidade em linha reta, retilinearidade e progressão, obtidas pelo CASA, tenham sido diferentes entre as coletas, possivelmente estas diferenças foram devido ao momento das coletas no período reprodutivo, sendo que a segunda coleta ocorreu no momento mais propício para a reprodução do tambaqui, onde a segunda e terceira coletas apresentaram os melhores resultados para estas características, exceto para a retilinearidade, na qual apenas a segunda coleta foi semelhante a primeira.

Wilson-Leedy & Ingermann [25] analisaram o sêmen de zebrafish com o programa CASA e encontraram médias de 104,00 $\mu\text{m s}^{-1}$, 77,00 $\mu\text{m s}^{-1}$, 66,00 $\mu\text{m s}^{-1}$ e 74,00% para as características velocidade curvilinear, velocidade de deslocamento, velocidade em linha reta e retilinearidade, respectivamente. Da mesma forma, Sanches et al. [17] encontraram para *Steindachneridion parahybae* 122,20 $\mu\text{m s}^{-1}$, 103,20 $\mu\text{m s}^{-1}$, 94,40 $\mu\text{m s}^{-1}$ e 91,40% para velocidade curvilinear, velocidade de deslocamento, velocidade em linha reta e retilinearidade respectivamente. Embora não tenha sido encontradas referências para estes valores para o tambaqui, pode-se observar que os resultados dos autores acima foram parecidos a mediana encontrada no presente experimento.

As características avaliadas pelo CASA são importantes, sendo que a fertilização está diretamente relacionada a motilidade espermática [8] e as velocidades de movimentação do espermatozoides [16], portanto, estas medidas encontradas neste trabalho para o tambaqui podem posteriormente ser utilizadas como parâmetros qualitativos.

5. Conclusão

As características qualitativas e quantitativas do sêmen do tambaqui foram mantidas nas duas primeiras coletas, sendo que as alterações de algumas destas características, principalmente na terceira coleta, podem estar relacionadas ao momento do período reprodutivo e/ou intervalo entre as coletas.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pela concessão da bolsa, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e piscicultura Buriti pelo apoio ao projeto de pesquisa.

REFERÊNCIAS

- [1] Araujo-Lima CARM, Gomes LC. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Baldisserotto, B.; Gomes, LC (Orgs.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: UFMS 2005, 175-202.
- [2] Baldisserotto B. Fisiologia de Peixes, aplicada à Piscicultura. UFMS, Santa Maria, 2013;3:349
- [3] Billard R, Cosson J, Laurence WC. Motility of fresh and aged halibut sperm. Aquatic Living Resources 1993;6:67-75.
- [4] Billard R, Cosson J, Perchec G, Linhart O. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. Aquaculture 1995;129:95-112.
- [5] Bombardelli RA, Mörschbacher EF, Campagnolo R, Sanches EA, Syperreck MA. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia Quelen* (Quoy & Gaimardm, 1824). Revista Brasileira de Zootecnia 2006;35:1251-1257.
- [6] Carneiro PCF. Tecnologias de produção e armazenamento de sêmen de peixes. Revista Brasileira Reprodução Animal 2007;3:361-366.
- [7] Cosson J; Billard R; Cibert C; Dreanno C; Suquet M. Regulation of axonemal wave parameters of fish spermatozoa by ionic factors. In: Gagnon C. In: The male gamete: from basic knowledge to clinical applications. Paris: Cache River; 1999, p. 161-186.
- [8] Dreanno C, Cosson J, Suquet M, Seguin F, Dorange G, Billard R. Nucleotides content, oxidative phosphorylation, morphology and fertilizing capacity of turbot (*Psetta maxima*)

spermatozoa during the motility period. *Molecular Reproduction Development* 1999;53:230 – 243.

[9] Froese R, Pauly D. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version 2009

[10] Goulding M, Carvalho LC. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae); na important amazon food fish *Revista Brasileira de zoologia* 1982;1:107-133.

[11] Leite LV, Melo MAP, Oliveira FCE, Pinheiro JPS, Campello CC, Nunes JF, Salmito-Vanderley CSB. Determinação da dose inseminante e embriogênese na fertilização artificial de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia* 2013;65:421-429.

[12] Lopera-Barrero NM, Ribeiro RP, Povh JA, Mendez LV, Poveda-Parra AR. Produção de organismos aquáticos: uma visão geral no Brasil e no mundo. Guaíba: Agrolivros; 2011. p. 320.

[13] Maria AN, Azevedo HC, Santos JP, Carneiro PCF. Hormonal induction and semen characteristics of tambaqui *Colossoma macropomum*. *Zygote* 2010;20:39-43.

[14] Maria AN, Azevedo HC, Santos JP, Silva CA, Carneiro PCF. Semen characterization and sperm structure of the Amazon tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of applied ichthyology* 2010;26: 779–783.

[15] Poupard GP, Paxion C, Cosson J, Jeulin C, Fierville F, Billard R. Initiation of carp spermatozoa motility and early ATP reduction after milt contamination by urine. *Aquaculture* 1998;160:317-328.

[16] Rurangwa E, Kime DE, Ollevier F, Nash JP. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture* 2004; 234: 1-28.

[17] Sanches EA, Neumann G, Baggio DM, Bombardelli RA, Piana PA, Romagosa E. Time and temperature on the storage of oocytes from jundiá catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture* 2011;319:453–458.

[18] Sanches EA, Okawara RY, Caneppele D, Toledo CPR, Bombardelli RA, Romagosa E. Sperm characteristics of *Steindachneridion parahybae* (Steindachner, 1877) throughout 112 h of storage at four temperatures. *Journal Applied Ichthyology* 2015;31:79–88.

[19] Streit Jr DP, Moraes GV, Ribeiro RP, Sakaguty ES, Povh JA, Moreira HLM. Effects of three different sources of pituitary extract on gonadal inducer in male and female pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Acta Scientiarum* 2005;27:439-447.

[20] Streit JR., DP, Ribeiro RP, Moraes GV, Mendez LV, Gallo JM, Digmayer M, Povh JA. Características qualitativas do sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após indução hormonal. *Bioscience Journal* 2006;22:119-125.

- [21]Streit Jr., DP, Sirol RN, Ribeiro RP, Moraes GV, Vargas LDM, Watanabe AL. Qualitative parameters of the piapara semen (*Leporinus elongatus* Valenciennes, 1850). Brazilian Journal of Biology 2008;68:373-377.
- [22]Streit Jr DP, Povh JÁ, Fornari DC, Galo JM, Guerreiro LRJ, Oliveira D, Digmayer M, Godoy LC. Recomendações técnicas para a reprodução do tambaqui. Embrapa Meio-Norte 2012:30
- [23]Vidal LVO, Albinati RCB, Santos Neto EB, Deus BT, Albinati ACL. Influência do peso de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) à ação anestésica do eugenol. Revista brasileira de saúde e produção animal 2007;8:212-216.
- [24]Vieira MJAF, Carvalho MAM, Salmito-Vanderley CSB, Salgueiro CCM, Viveiros ATM, Moura AAAN, Nunes JF. Características do sêmen de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em latitude equatorial. Archivos de zootecnia, 2011;60:1263-1270.
- [25]Wilson-Leedy, JG, Ingermann RL. Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. Theriogenology 2007;67:661-672.
- [26]Woynarovich E, Horváth L. A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1983.