

**Caracterização seminal de carás (*Geophagus brasiliensis* - Cichlidae) induzidos artificialmente**

Andréa Ferretto da Rocha¹, Abdel Correia Handem², Mario Luiz Biazetti Filho³, Marcia Regina Stech⁴,
Mario Roberto Chim Figueiredo⁵

Resumo - Um estudo foi realizado com o objetivo de avaliar as características seminais do cará *Geophagus brasiliensis* mantido em cativeiro com e sem indução hormonal. Para tanto, foram utilizados 26 machos distribuídos entre os seguintes tratamentos: nove machos sem indução hormonal; nove machos com indução hormonal de extrato de hipófise de carpa (HC) e oito machos com indução hormonal por gonadotropina coriônica humana (HCG). Os parâmetros avaliados para a caracterização seminal nos diferentes tratamentos foram volume seminal, cor do sêmen, motilidade espermática, vigor espermático, tempo de latência, concentração espermática e viabilidade espermática. Os dados foram submetidos à análise de variância com 95% de confiança. A coloração do sêmen foi classificada como branco leitoso. Os valores médios para a motilidade, vigor espermático e concentrações dos espermatozoides foram: 94,44%, 78,75% e 63,88%; 4,44, 4,00 e 3,55; 5,10, 5,00 e 5,72 x 10⁹ mL⁻¹, para os tratamentos sem indução, HCG e HC, respectivamente. O tempo de latência espermático variou de 143,4 a 988,2 segundos e a viabilidade espermática foi de 100% para todos os tratamentos. A análise de variância não apresentou diferença significativa entre os efeitos dos diferentes tratamentos sobre nenhum dos parâmetros avaliados. Embora os resultados tenham demonstrado não ser necessária a indução artificial de machos durante o período reprodutivo, outros protocolos de reprodução artificial devem ser testados para *G. brasiliensis* vislumbrando o uso da espécie de forma comercial na aquicultura.

Palavras-chave: Aquicultura. Peixe nativo. Reprodução induzida.

Semen characterization of Pearl cichlid (*Geophagus brasiliensis* - Cichlidae) artificially induced

Abstract - A study was conducted with the objective of evaluating the seminal characteristics of the *Geophagus brasiliensis* kept in captivity with and without hormonal induction. For that, 26 males were distributed among the following treatments: nine males without hormonal induction; nine males with hormonal induction of carp hypophysis extract (HC) and eight males with hormonal induction by human chorionic gonadotropin (HCG). The parameters seminal volume, semen color, sperm motility, sperm vigor, sperm latency time, sperm concentration and sperm viability were evaluated for the seminal characterization of males of different treatments. The data were submitted to analysis of variance with 95% confidence. The semen color was classified as milky white. Mean values for motility, vigor and sperm concentrations were: 94.44%, 78.75% and 63.88%; 4.44, 4.00 and 3.55; 5.10, 5.00 and 5.72 x 10⁹ mL⁻¹, for the non-induction, HCG and HC treatments, respectively. The sperm latency time ranged from 143.4 to 988.2 seconds and the sperm viability was 100% for all treatments. Analysis of variance did not show a significant difference between the effects of the different treatments on the evaluated parameters. Although the results demonstrated the artificial induction of males during the reproductive period is not necessary, other artificial reproduction protocols should be tested for *G. brasiliensis* envisioning the use of the specie commercially in aquaculture.

Keywords: Aquaculture. Native fish. Induced reproduction.

¹ Pesquisadora em Aquicultura/Bióloga. Centro de Pesquisa Litoral Norte, Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural, DDP, Rodovia RS 484, Km 5, CEP 95530-000, Caixa Postal 35, Maquiné/RS, Brasil. E-mail: andreaferretto@hotmail.com

² Oceanógrafo. Rua Passos Figueiroa, 160, Bairro Sarandi, CEP 91110-500, Porto Alegre/RS, Brasil. E-mail: handemabdel@hotmail.com

³ Biólogo Marinho. Rua Comendador Mario Campos Costa, 447, CEP 17340-000, Barra Bonita/SP, Brasil. E-mail: biazetti@live.com

⁴ Zootecnista. CEP 38770-000, Caixa Postal 53, João Pinheiro/MG, Brasil. E-mail: marciareginastech@gmail.com

⁵ Professor Universitário/Oceanógrafo. Universidade Federal do Rio Grande, IO, LAC, Caixa Postal 474, CEP 96201-900, Rio Grande/RS, Brasil. E-mail: docchim@furg.br



Introdução

O cará *Geophagus brasiliensis* é um peixe neotropical distribuído em bacias costeiras do leste e sul do Brasil e do Uruguai, que pode atingir em torno de 25 cm de comprimento. Na região norte do Rio Grande do Sul, pode ser encontrado em todos os corpos d'água do sistema do rio Tramandaí, inclusive na região estuarina, predominantemente em ambientes lânticos e de baixa profundidade (MALABARBA et al., 2013).

De hábito territorialista, a espécie apresenta seu pico reprodutivo em novembro e fevereiro, conforme demonstrado por Santos e Fontoura (2000). Na época de acasalamento, os machos apresentam dimorfismo sexual através de uma protuberância na parte superior da cabeça e coloração azul iridescente (BARBIERI et al., 1981), fazendo ninhos em terrenos de fundo arenoso, com profundidade média de 15 cm (MARDINI apud SANTOS e FONTOURA, 2000), onde a fêmea deposita os ovócitos, aproximadamente 500 (BUCKUP e REIS apud SANTOS e FONTOURA, 2000) e o macho os fertiliza liberando o sêmen sobre os ovócitos. A eclosão dos ovos ocorre após 96 horas de fecundados a uma temperatura de 25°C, e as larvas medem cerca de 0,5 cm ao nascer (MARDINI apud SANTOS e FONTOURA, 2000).

Possui importância na pesca artesanal e apresenta grande potencial para a aqüicultura devido às suas características de robustez, facilidade de manuseio e alimentação, e capacidade de se reproduzir facilmente nos tanques e lagos (AMARAL JUNIOR et al., 2011). Desta forma, torna-se necessária a elaboração de estudos que garantam a preservação genética e que forneçam subsídios para a aqüicultura e manutenção dos estoques naturais da espécie (GODINHO et al., 2003).

Estudos sobre a espécie estão em processo de desenvolvimento, especialmente no sul do Brasil, e a indicam como uma espécie nativa que pode ser utilizada como alternativa de diversificação de espécies em sistemas de criação (AMARAL JUNIOR et al., 2011). Estudos com o objetivo de melhorar as características da espécie, de modo a torná-la economicamente interessante para a aqüicultura, bem como estudos que permitam a produção de alevinos em laboratório e a ausência de reprodução espontânea ainda são escassos, embora já existam estudos sobre métodos de criopreservação seminal de *G. brasiliensis* (CALDAS, 2014) e sobre a espermiogênese e ultraestrutura dos espermatozoides da espécie (ORTIZ, 2012).

É conhecido na literatura que a ocorrência de acasalamentos subsequentes dentro dos tanques sem a utilização de protocolos de reprodução adequados e/ou realização de fertilização artificial pode levar, ao longo do tempo, na diminuição da variabilidade genética do lote de peixes (LOPERA-BARRERO et al., 2014). Também já foi referenciado que tanto a liberação de sêmen como a qualidade dos gametas podem ser comprometidas quando os animais estão confinados em cativeiro (RURANGWA et al., 2004), necessitando, em muitos desses casos, recorrer às técnicas de indução hormonal para a reprodução. Além disso, em alguns casos, essa indução hormonal é necessária para viabilizar a produção de alguma espécie que tenha capacidade



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

de reproduzir-se espontaneamente, mas a sua precocidade reprodutiva é indesejada em criações (ANDRADE e YASUI, 2003), como é observado com tilápias e carás.

A reprodução espontânea é altamente indesejada na aquicultura comercial, uma vez que o peixe investe muita energia no período reprodutivo, prejudicando o crescimento. Na produção de tilápia, por exemplo, os alevinos são revertidos sexualmente de modo a evitar a reprodução espontânea nos tanques de criação (LEONHARDT, 1997). Esse mesmo evento pode ser observado no cará, que com cerca de 8,0 cm já está apto à reprodução, que ocorre naturalmente em cativeiro, especialmente em tanques de terra (SANTOS e FONTOURA, 2000).

A possibilidade de se proceder à reversão ou inversão sexual pode ser uma importante contribuição na produção de carás, assim como foi para as tilápias (LEONHARDT, 1997), viabilizando a produção de alevinos em laboratório em escala comercial.

A utilização de hormônios na aquicultura permite realizar e ter certo controle sobre a reprodução em cativeiro (GARCÍA-ALONSO e VIZZIANO, 2004). Os hormônios mais comumente utilizados como indutores da maturação gonadal na reprodução de peixes são o extrato hipofisário de carpa (HC), a gonadotrofina coriônica humana (HCG) e hormônios liberadores de gonadotrofinas (GnRH), sendo os dois primeiros os de maior facilidade de aquisição.

O método de indução utilizando hipófise de carpas foi, por muito tempo, a técnica mais estudada e utilizada na reprodução artificial dos peixes em cativeiro. Segundo Murgas et al. (2012), a hipófise estimula diretamente as glândulas, apresentando facilidade na metodologia de utilização e tempo de estocagem. Porém, não existem padronizações de comercialização, sendo que a concentração do hormônio pode variar entre diferentes lotes adquiridos, além de poder disseminar doenças e causar reação imune nas matrizes.

A gonadotropina coriônica humana purificada (HCG) é outro hormônio comumente utilizado na reprodução artificial dos peixes devido a seu efeito de meia-vida prolongado e a sua atuação como hormônio luteinizante (LH), embora o seu uso de não se mostre eficaz em todas as espécies de peixes, e por esta razão é comum proceder à aplicação de doses elevadas para poder estimular a maturação final dos peixes (ZANIBONI FILHO e WEINGARTNER, 2007).

Portanto, são necessários estudos com reprodução induzida que avaliem os diferentes indutores hormonais e suas respostas com vistas à geração de protocolos adequados de reprodução para cada espécie.

Para uma reprodução bem sucedida de qualquer espécie, também a qualidade do sêmen deve ser levada em consideração para garantir uma fertilização eficiente. No que tange à qualidade do material seminal, existem diferentes níveis de complexidade de avaliação, incluindo diversos parâmetros espermáticos que são utilizados para avaliar a qualidade do material seminal dos peixes para a reprodução (RURANGWA et al., 2004).



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

O objetivo deste estudo foi analisar características seminais e espermáticas de machos de *G. brasiliensis*, incluindo volume seminal, cor, concentração espermática, motilidade progressiva, vigor espermático, tempo de latência e viabilidade dos espermatozoides, em indivíduos sem indução hormonal, em indivíduos induzidos hormonalmente com extrato de hipófise de carpa (HC) e indivíduos induzidos hormonalmente com gonadotropina coriônica humana (HCG).

Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Centro de Pesquisa Herman Kleerekoper, DDPa, Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural, em parceria com o Laboratório de Aquicultura Continental – LAC, do Instituto de Oceanografia – IO, da Universidade Federal do Rio Grande – FURG, durante os meses de setembro a dezembro de 2014, com as seguintes coordenadas 29°38'33.37''S e 50°05'55.45''W.

Para avaliação dos parâmetros seminais, 30 machos de *G. brasiliensis* foram capturados com redes de arrasto e tarrafa dos tanques e levados para o laboratório de ensaios para aclimatação, onde permaneceram em caixas de polietileno com um volume de 200 L de água natural (10% renovação ao dia; temperatura média de $23 \pm 1^\circ\text{C}$; pH 7,0) e aeração proveniente de um compressor de ar (oxigênio dissolvido acima de 6 mg L^{-1}).

Tabela 1. Peso e comprimento médio (\pm DP) dos animais utilizados no experimento, de acordo com cada tratamento (sem indução; indução com hipófise de carpa – HC; indução com gonadotropina coriônica humana – HCG).

Parâmetros	Tratamentos		
	Sem indução	HC	HCG
Peso (g)	79,78 \pm 17,31	104 \pm 53,76	120,4 \pm 50,47
Comprimento (cm)	16,55 \pm 1,34	17,81 \pm 3,86	20,15 \pm 5,89
Número amostral	9	8	8

Os animais foram coletados dos tanques no mês de novembro, considerado por Santos e Fontoura (2000) como o auge da época reprodutiva dos carás *G. brasiliensis*. Contudo, a extrusão por massagem abdominal de material seminal não foi eficiente, isto é, não favoreceu a liberação de sêmen, sendo necessário proceder à extração das gônadas para maceração.



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

As principais características qualitativas e quantitativas do sêmen de cará foram avaliadas para os seguintes tratamentos: animais sem indução hormonal; com indução hormonal de hipófise de carpa (HC) e animais com indução hormonal de gonadotropina coriônica humana (HCG).

Após a aclimatação, deu-se início a coleta do sêmen, primeiramente sem indução hormonal (10) e, após, com indução hormonal (10 com HC e 10 com HCG). No tratamento HC, a quantidade de hipófise necessária foi pesada, macerada e diluída em 0,5 mL de soro fisiológico estéril (0,9 % de NaCl). Os indutores hormonais foram aplicados em duas doses de injeções intraperitoneais, com intervalo de 17 horas entre as aplicações, sendo duas aplicações de 1,0 mg HC kg⁻¹ de peso vivo, de modo a estimular o desenvolvimento dos primeiros estádios de maturação gonadal, conforme recomendações de Zaniboni Filho e Weingartner (2007), e após 24 horas da segunda aplicação, procedeu-se à extrusão do sêmen. No tratamento HCG, o hormônio líquido foi diluído em 0,5 mL de 0,9% de NaCl e foram realizadas duas aplicações: 200 HCG UI kg⁻¹ de peso vivo na primeira aplicação e 400 UI HCG kg⁻¹ de peso vivo na segunda aplicação (CARNEIRO e MIKOS, 2008), com intervalo de 17 horas entre uma aplicação e outra. Após 24 horas da segunda aplicação, procedeu-se à extrusão do sêmen.

Foram encontradas dificuldades na extrusão do sêmen dos animais por massagem abdominal, e, por este motivo, foi necessário recorrer à maceração gonadal. Para tanto, 26 animais foram utilizados, sendo nove animais sem indução hormonal, nove animais induzidos com HC e oito animais induzidos com HCG. Para a coleta das gônadas, os animais foram anestesiados com eugenol 100 mg L⁻¹ e eutanasiados por secção da medula espinhal. Os testículos foram coletados por uma incisão na região abdominal, pesados e colocados dentro de uma seringa de três mL adaptada com tela de 50 µm de porosidade na ponta para maceração gonadal com o êmbolo da própria seringa.

O sêmen de cada peixe foi coletado individualmente, em seringas plásticas graduadas, envoltas em papel alumínio. O volume de sêmen (mL) coletado foi aferido na própria seringa e mantido em temperatura ambiente conforme sugerido por Mataveli et al. (2007). A cor do sêmen foi determinada através de observação direta, por um mesmo avaliador, usando-se um *escore* de 1 a 3, sendo o número 1 a coloração branco-leitoso, o número 2 a coloração branco-aquosa e o número 3 a coloração amarelo-cítrico (MATAVELI et al., 2007).

Uma amostra de cada material (10 µL) foi analisada em microscópico óptico (400 x de aumento) para verificar se houve contaminação. Sendo negativo para contaminação, 20 µL de cada amostra de material seminal fresco foi diluído em água destilada (20:200 µL) para ativação dos espermatozoides e avaliação da motilidade espermática e vigor espermático, a partir da observação em microscópio óptico (400 x de aumento) de uma alíquota de 2 µL em lâmina, por um mesmo avaliador, utilizando um *escore* de 0 a 100% para a motilidade espermática (MATAVELI et al. 2007), e um *escore* de 0 a 5 pontos a partir de de qualidade do movimento exibido pelos espermatozoides, considerando-se o vigor espermático mínimo aceitável igual a 3. O tempo de



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

latência total dos espermatozoides, ou duração da motilidade, que representa o tempo em que os espermatozoides permanecem móveis, foi cronometrado, iniciando-se no momento da ativação dos espermatozoides até a parada completa dos movimentos de todos espermatozoides. Para o cálculo da concentração espermática, uma alíquota de 2 µL de amostra de sêmen fresco foi diluída em 10 µL de formol tamponado 4% e a contagem de espermatozoides foi realizada na câmara de Neubauer com auxílio de um microscópio óptico de luz com contraste de fase (400 x de aumento) (MARIA et al. 2011), e a concentração espermática foi calculada pela Fórmula 1 (CBRA, 1998).

Fórmula 1:

$$[spz \cdot mL^{-1}] = \left(\frac{\Sigma spz}{5q.c.} \right) \times \frac{25q.t. \times D \times 100}{d} \quad (1)$$

onde:

$[spz \cdot mL^{-1}]$ = concentração de espermatozoides em mL; Σspz = número total dos espermatozoides contados em mL; $q.c.$ = quadrados contados na Câmara de Neubauer em mm; $q.t.$ = totais de quadrados na Câmara de Neubauer em mm; D = fator de diluição do sêmen pelo fixador em mL; d = 0,1 mm; representa a profundidade da Câmara de Neubauer.

A viabilidade dos espermatozoides (%) foi avaliada a partir da análise de esfregaços preparados com amostras de material seminal corado com eosina na razão de 2:200 µL (sêmen: eosina) por 24 h e analisadas em microscópio (1000 x de aumento), onde foram observados e contados 200 espermatozoides por amostra. Espermatozoides coloridos de rosa ou vermelho foram considerados mortos/sem membranas íntegras (MARIA et al., 2011).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso. Cada amostra de sêmen analisada foi considerada como uma unidade experimental. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA uma – via), considerando-se as premissas de normalidade (Kolmogorov - Smirnov) e homocedasticidade (Levene) dos dados. Os valores em percentual foram previamente transformados (arcoseno da raiz quadrada de x/100) (SOKAL e ROHLF, 1995). Todas as análises estatísticas foram executadas ao nível de significância de 95% e realizadas com auxílio do *software* Statistica® 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

Resultados e Discussão

Os valores médios para volume de sêmen colhido, cor, vigor espermático, tempo de latência, motilidade espermática, concentração de espermatozoides no material seminal coletado dos carás estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros seminais e espermáticos de carás *G. brasiliensis* sem indução, com indução hormonal por extrato de hipófise de carpa (HC) e com indução hormonal por gonadotropina coriônica humana (HCG).

Parâmetros	Tratamentos								
	Sem Indução			HC			HCG		
	Méd ± DP (Mín. – Máx.)	C.V.	n°	Méd ± DP (Mín. – Máx.)	C.V.	n°	Méd ± DP (Mín. – Máx.)	C.V.	n°
Volume (mL)	0,066 ± 0,028 (0,05 – 0,1)	4,42	9	0,283 ± 0,225 (0,05 – 0,3)	79,51	9	0,130 ± 0,067 (0,05 – 0,2)	51,54	8
Cor	Branco leitoso		9	Branco leitoso		9	Branco leitoso		8
Motilidade	94,44 ± 5,27 (90 – 100)	5,58	9	63,88 ± 30,8 (20 – 100)	48,20	9	78,75 ± 28 (30 – 100)	38,47	8
Espermática (%)									
Vigor Espermático	4,44 ± 0,52 (4,00 – 5,00)	1,71	9	3,55 ± 1,01 (2,00 – 5,00)	28,45	9	4,00 ± 1,06 (2,00 – 5,00)	26,5	8
Tempo de Latência (s)	489,6 ± 210,3 (198,0 – 681,6)	42,95	9	259,5 ± 121,9 (143,4 – 503,4)	46,97	9	429,1 ± 273,5 (184,8 – 988,2)	63,74	8
Concentração de SPZ (x10⁹ mL⁻¹)	5,10 ± 1,07 (3,915 – 6,515)	20,98	9	5,72 ± 0,91 (4,036 – 6,785)	15,98	9	5,00 ± 1,28 (2,975 – 6,365)	25,6	8
Viabilidade Espermática (%)	100		9	100		9	100		8

Méd. = média; DP = desvio padrão; Mín.= mínimo; Máx. = máximo; C.V.= coeficiente de variação; n°= número de indivíduos analisados; HC = tratamento indução hormonal com extrato de hipófise de carpa; HCG = tratamento indução hormonal com gonadotropina coriônica humana; SPZ = espermatozoides.

O volume de sêmen coletado nos machos de *G. brasiliensis* neste estudo variou entre 50 e 300 µL, sem diferença significativa ($p>0,05$) entre os diferentes tratamentos. Estes valores estão aproximados dos valores observados por Cejko et al. (2012) em machos de *Leuciscus leuciscus* induzidos com HC e HCG (< 1,0 mL),



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

por Matavelli et al. (2007) em machos de *Oreochromis niloticus* tratadas com ração suplementada com vitamina C (350 µL).

A produção seminal é influenciada e afetada por diversos fatores, tanto naturais como de manejo, tais como a época do ano, o tamanho do indivíduo, estado nutricional, tipo e dose de hormônio indutor e metodologia de coleta utilizada (VIVEIROS e GODINHO, 2009).

Zaniboni Filho e Weingartner (2007) relatam que a realização de indução hormonal e mesmo a qualidade e tipo de hormônios aplicados durante o processo afeta na quantidade de sêmen produzido. Contudo, não foi possível observar diferença significativa entre os tratamentos com diferentes indutores hormonais, e mesmo quando comparados os tratamentos com indução hormonal com o tratamento sem indução hormonal, essa diferença não foi significativa. Cejko et al. (2012) também não observou diferença no volume seminal e produção de espermatozoides produzidos por machos de *Leuciscus leuciscus* expostos a diferentes preparações hormonais sem inibidores de dopamina (LHRHa, HCG). Da mesma forma, Pereira et al. (2016) não observaram diferença em *O. niloticus* entre o tratamento controle e o grupo anestesiado previamente com 120 mg L⁻¹ eugenol quanto ao volume de sêmen produzido, que foi de 310 ± 137 µL e 260 ± 142 µL, respectivamente.

A coloração do sêmen de *G. brasiliensis* pôde ser classificada como branco leitoso, sem diferença entre os tratamentos analisados. Também Matavelli et al. (2007) verificaram predominância de coloração branco-leitosa no sêmen de reprodutores de *O. niloticus*.

A motilidade dos espermatozoides de *G. brasiliensis* foi observada imediatamente após a ativação do sêmen, sendo os valores médios encontrados neste estudo de 94,44%, 78,75% e 63,88%, para os tratamentos sem indução, HCG e HC, respectivamente. Contudo, não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) entre os tratamentos, possivelmente devido a elevada variabilidade no resultado individual dos animais. Caldas (2014) ao testar diferentes crioprotetores de sêmen de *G. brasiliensis* observou baixas taxas de motilidade, desde 0,0 ± 0,0 (sem crioprotetor) até 24,0 ± 3,0 %, com crioprotetor DMSO 10%. Já Matavelli et al. (2007) registraram uma taxa de aproximadamente 81% para a tilápia *O. niloticus*. A motilidade espermática é um fator preponderante para determinação da qualidade do sêmen, considerada um importante aspecto na reprodução de peixes (RURANGWA et al., 2004). Os mesmos autores enfatizam que os espermatozoides que são altamente móveis terão uma maior chance de fertilização. Król et al. (2009) afirmam que os estímulos hormonais são capazes de afetar a motilidade espermática, enquanto que Mylonas et al. (2010) mencionam que as diferenças entre o peixe controle e o peixe submetido à estimulação hormonal nem sempre são significativas. Outro fator que deve ser levado em consideração é o fato de se anestésiar os animais antes da coleta do material seminal. Pereira et al. (2016) verificaram que a média da taxa de motilidade espermática do sêmen de *O. niloticus* não-



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

anestesiados foi significativamente superior ($91 \pm 9,944\%$) a dos espécimes anestesiados ($81,5 \pm 7,835\%$), revelando que a taxa de motilidade espermática diminuiu com o uso do anestésico eugenol.

A motilidade espermática pode ser avaliada de forma subjetiva, a partir da observação do material em microscópio ou, de forma objetiva, pelo sistema *computer assisted sperm analysis* (CASA). Rurangwa et al. (2004) enfatizam que uma avaliação precisa das características da motilidade só pode ser feita por métodos rápidos e sensíveis, tais como o CASA. Contudo, nos estudos de Nascimento et al., (2010) e Viveiros et al., (2010) não foi observada diferença significativa entre a motilidade espermática avaliada de forma subjetiva e a motilidade avaliada pelo sistema CASA.

Os valores médios do vigor espermático de *G. brasiliensis* encontrados no presente trabalho foram 4,44; 4,00 e 3,55, respectivamente para os tratamentos sem indução, HCG e HC, sem diferença significativa entre eles ($p > 0,05$). Valor aproximado (3,45) foi encontrado por Streit Jr. et al. (2009) em amostras de sêmen *in natura* de *Piaractus mesopotamicus*.

O tempo de latência espermático de *G. brasiliensis* observado no presente trabalho variou de 143,4 a 988,2 segundos, porém não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) entre os tratamentos, possivelmente devido a elevada variabilidade no resultado individual dos animais. Sadiqul Islam e Akhter (2011) já faziam referência ao fato da duração da motilidade variar muito de indivíduo para indivíduo. Caldas (2014) ao avaliar diferentes crioprotetores para o sêmen de *G. brasiliensis* observou tempos médios de motilidade espermática variando de $0,0 \pm 0,0$ (sem crioprotetor) a $160,5 \pm 13,7$ segundos (crioprotetor DMSO 10%). Pereira et al. (2016) observaram um tempo médio de motilidade espermática de $534,7 \pm 310$ segundos em *O. niloticus* anestesiados com eugenol, enquanto o controle apresentou um tempo médio de $588,9 \pm 320$ segundos, sem diferença entre os tratamentos. Rurangwa et al. (2004) relatam que na maioria das espécies de peixes de criação, a duração da motilidade é breve (aprox. 1 minuto). Contudo, Mylonas et al. (2010) enfatizam que durante o processo da reprodução, apresentar um maior tempo de motilidade dos espermatozoides pode ser positivo por se ter um maior tempo disponível para a fertilização.

As concentrações espermáticas (densidade) médias de *G. brasiliensis* encontradas no presente estudo foram de 5,10, 5,0 e $5,72 \times 10^9$ esp. mL⁻¹, respectivamente para os tratamentos sem indução, HCG e HC, sem diferença entre os tratamentos ($p > 0,05$). Similar a estes resultados, pode-se citar a concentração espermática média de *O. niloticus* suplementadas ou não com vitamina C relatada por Matavelli et al. (2007), que foi de $2,63 \times 10^9$ esp. mL⁻¹. Em peixes teleósteos a concentração espermática pode variar de $2,0 \times 10^6$ a $6,5 \times 10^{10}$ espermatozoides por mL de sêmen, dependendo da espécie (MOJICA, 2004).

A viabilidade espermática (espermatozoides com membrana plasmática intacta) de *G. brasiliensis* no presente estudo foi de 100%, sem variação ($p > 0,05$) entre os diferentes tratamentos. Valores de elevada



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

integridade de membrana também foram encontrados por Rocha (2017) em espermatozoides de *R. quelen*. A viabilidade dos espermatozoides (ou índice de sobrevivência dos espermatozoides – SANCHES et al., 2011) é essencial para que o processo reprodutivo seja eficiente em peixes, sendo um dos parâmetros mais utilizados para avaliar a qualidade do sêmen, indicando a sua potencialidade para a fertilização (STREIT JR. et al., 2009).

Um volume total maior de sêmen, uma produção total maior de espermatozoides e/ou espermatozoides associados a altos valores de motilidade seminal e viabilidade dos espermatozoides são considerados sinais de boa qualidade para os gametas masculinos e, conseqüentemente, sua capacidade de fertilizar os óvulos (CEJKO et al., 2012). Król et al. (2009) complementam que a efetividade dos diferentes métodos de regulação hormonal parecem ser espécie-específicos em teleósteos, necessitando, nesse caso, de testes para cada espécie, e mesmo protocolos diferenciados para machos e fêmeas, em muitos casos.

A utilização de protocolos de indução à desova e à espermição atende ao aumento de demanda por alevinos de qualidade e em número maior para produções comerciais. Estudos que tenham como objetivo o tipo certo e a dose exata de hormônio aplicado em machos e fêmeas, são importantes para otimizar a produção de alevinos de espécies nativas e alavancar a aquicultura (ORFÃO, 2013).

Diferentemente dos peixes migradores, os ciclídeos, em geral, reproduzem-se facilmente no ambiente. Amorim (2002), ao utilizar diferentes indutores em machos de tilápia do Nilo, não observou diferença significativa entre aspectos qualitativos e quantitativos do material seminal, concluindo que a indução dos machos poderia ser desnecessária, como parece ser o caso da espécie *G. brasiliensis*, que, de acordo com os resultados apresentados neste estudo, não requisitaria de indução hormonal para a reprodução em cativeiro. Contudo, compreende-se que outros protocolos de reprodução artificial devem ser testados, vislumbrando o uso da espécie de forma comercial na aquicultura.

Considerações

Estudos posteriores com *G. brasiliensis* devem levar em consideração as necessidades atuais da espécie para atuar no cenário aquícola, com a finalidade de gerar protocolos de reprodução e larvicultura, reversão sexual e criopreservação de material seminal, uma vez que há dificuldade na obtenção dos gametas e plantel de reprodutores. Adicionalmente, métodos de análises mais objetivos devem ser utilizados para melhor conhecimento das características reprodutivas quali-quantitativas da espécie.



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

Referências

AMARAL JÚNIOR, H.; NETTO, J. A.; GARCIA, S.; MELLO, G. L. Pesquisa de comparação entre a taxa de crescimento do Acará *Geophagus brasiliensis* e a Tilápia *Oreochromis niloticus* em condições de monocultivo intensivo utilizando ração e alimento vivo. **Revista Electrónica de Veterinária**, v. 12, n. 9, p. 1–22, 2011.

AMORIM, V. M. C. **Criopreservação do sêmen de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), variedade chitralada**. Belo Horizonte, Minas Gerais: PUC, 2002. 64p. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Programa de Pós-graduação em Zoologia de Vertebrados, Pontifícia Universidade Católica.

ANDRADE, D.R.; YASUI, G.S. Manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, n. 2, p. 166-172, 2003.

BARBIERI, M. C.; BARBIERI, G.; MARINS, M. A. Sobre a anatomia e histologia de testículo de *Geophagus brasiliensis* na repêsa do Lobo, São Paulo. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 41, n. 1, p. 169-73, 1981.

BUCKUP, P. A.; REIS, R. Conheça nossos peixes. Natureza em revista 1985; 10: 22-29. In: SANTOS, G. O., FONTOURA, N. P. Dinâmica Reprodutiva de *Geophagus brasiliensis* (QUOY & GAIMARD, 1824), no açude Águas Belas, Viamão, Rio Grande do Sul. (TELEOSTEI — CICHLIDAE). **Pesquisa Agropecuária Gaúcha** - Seção: Recursos Naturais Renováveis, v. 6, n. 1, p. 131-44, 2000.

CALDAS, J. S. **Dimetil sulfóxido, Etileno glicol e Glicerol na criopreservação seminal de *Geophagus brasiliensis***. Rio Grande, Rio Grande do Sul: FURG, 2014. 51 p. Dissertação (Mestrado em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais) - Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande.

CARNEIRO, P. C. F.; MIKOS, J. D. Gonadotrofina coriônica humana e hormônio liberador de gonadotrofina como indutores da reprodução do jundiá. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 30, n. 3, p. 345–350, 2008.

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2ª ed. Belo Horizonte. 1998. 49 p.



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

CEJKO, B. I.; TARGON'SKA, K.; KOWALSKI, R. K.; ŻARSKI, D.; SAROSIEK, B.; KUCHARCZYK, D.; GLOGOWSKI, J. The effectiveness of hormonal preparations (Ovopel, Ovaprim, LHRHa, hCG and CPE) in stimulating spermiation in dace *Leuciscus leuciscus* (L.). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 28, p. 873–877, 2012.

GARCÍA-ALONSO, J.; VIZZIANO, D. Induction of oocyte maturation in the white croaker *Micropogonias furnieri* (Pisces: Sciaenidae) by human chorionic gonadotropin. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, p. 73-80, 2004.

GODINHO, H. P.; AMORIM, V. M. C.; PEIXOTO, M. T. D. Criopreservação do Sêmen de Tilápia-Nilótica *Oreochromis niloticus*, var. Chitralada: Crioprotetores, Soluções Ativadoras e Refrigerador Criogênico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1537-1543, 2003.

KRÓL, J.; KOWALSKI, R. K., HLIWA, P.; DIETRICH, G.; STABINSKI, R.; CIRIEZKO, A. The effects of commercial preparations containing two different GnRH analogues and dopamine antagonists on spermiation and sperm characteristics in the European smelt *Osmerus eperlanus* (L.). **Aquaculture**, v. 286, p. 328–331, 2009.

LEONHARDT, J. H. **Efeito da reversão sexual em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757)**. Jaboticabal, São Paulo: UNESP, 1997. 141 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista.

LOPERA-BARRERO N. M.; ALVAREZ, C. A. R.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. P.; POVH, J. A.; VARGAS, L.; STREIT JÚNIOR, D. P.; SIROL, R. N.; RIBEIRO, R. P. Diversidade genética e paternidade de progênes de *Brycon orbignyanus* obtidas por diferentes sistemas reprodutivos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 541-554, 2014.

MALABARBA, L. R.; NETO, P. C.; BERTACO, V. A.; CARVALHO, T. P.; SANTOS, J. F.; ARTIOLI, L. G. **S. Guia de identificação dos peixes da bacia do rio Tramandaí**. Porto Alegre: Editora Via Sapiens, 2013. 140 p.



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

MARDINI, C. V. Desova em confinamento do cará manteiga, *Geophagus brasiliensis* e comentários sobre a espécie. Porto Alegre: Departamento de Pesca, Secretaria da Agricultura do RS, 1983, 8 p. In: SANTOS, G. O.; FONTOURA, N. P. Dinâmica Reprodutiva de *Geophagus brasiliensis* (QUOY & GAIMARD, 1824), no açude Águas Belas, Viamão, Rio Grande do Sul. (TELEOSTEI — CICHLIDAE). **Pesquisa Agropecuária Gaúcha** - Seção: Recursos Naturais Renováveis, v. 6, n. 1, p. 131-144, 2000.

MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; SANTOS, J. P.; CARNEIRO, P. C. F. Hormonal induction and semen characteristics of tambaqui *Colossoma macropomum*. **Zigote**, v. 5, p.1-5, 2011.

MATAVELI, M.; MORAES, G. V.; STREIT Jr., D. P.; MENDEZ, L. D. V.; SAKAGUTI, E. S.; TONINATO, J. C.; BARBOSA, R. C.; MERLINI, L. Avaliação da qualidade do sêmen de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), Linhagem chitralada, suplementada com diferentes concentrações de vitamina C. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 33, n. 1, p. 1-7, 2007.

MOJICA, C. A. P. **Análise ultraestrutural e avaliação do sêmen de peixes neotropicais, *Brycon orbignyanus*, *Rhamdia quelen* e *Brycon hilarii* (Pisces, Teleostei)**. Campus de Jaboticabal, São Paulo: UNESP, 2004. 82 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista.

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.

NASCIMENTO, A. F.; MARIA, A. N.; PESSOA, N. O.; CARVALHO, M. A. M.; VIVEIROS, A. T. M. Out-of-season sperm cryopreserved in different freezing media of the Amazonian freshwater fish pirapitinga (*Piaractus brachypomus*). **Animal Reproduction Science**, v. 118, n. 2, p. 324-29, 2010.

ORFÃO, L. H. Indução da desova e espermição de peixes em criações comerciais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 192-195, 2013.

ORTIZ, R. J. **Características espermáticas na subfamília Cichlinae (Perciformes: Cichlidae) e suas implicações filogenéticas**. Campus de Botucatu, São Paulo: UNESP, 2012. 77 p. Tese (Doutorado em Biologia Geral e Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

PEREIRA, P. N. B.; DA SILVA, A. C.; TEIXEIRA, E. G.; FARIAS, W. R. L. Efeito do anestésico eugenol na qualidade espermática do sêmen de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 10, n. 3, p. 415 – 435, 2016.

ROCHA, V. M. Caracterização do sêmen de neomachos de *Rhamdia quelen*. Florianópolis: UFSC, 2017. 80 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina.

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

SADIQUL ISLAM, M.; AKHTER, T. Tale of Fish Sperm and Factors Affecting Sperm Motility: A Review. **Advances in Life Sciences**, v. 1, n. 1, p. 11-19, 2011.

SANCHES, E. A.; BAGGIO, D. M.; PIANA, P. A.; SOUZA, B. E.; BOMBARDELLI, R. A. Artificial fertilization of oocytes and sperm activation in pacu: effects of the spermatozoa: oocyte ratio, water volume, and *in natura* semen preservation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 1, p. 1-6, 2011.

SANTOS, G. O.; FONTOURA, N. F. Dinâmica reprodutiva de *G. brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824), no açude Águas Belas, Viamão, Rio Grande do Sul. (Teleostei - Cichlidae). **Pesquisa de Agropecuária Gaúcha**, v. 6, n. 1, p. 131–144, 2000.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3rd ed. New York: W.H. Freeman, 1995. 887 p.

STREIT JR., D. P.; OLIVEIRA, A. C.; RIBEIRO, R. P.; SIROL, R. N.; MORAES, G. V.; GALO, J. M.; DIGMAYER, M. Motilidade, vigor e patologias seminal *in natura* e pós-criopreservação de *Piaractus mesopotamicus*. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 159–167, 2009.

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



doi: <https://doi.org/10.36812/pag.2019253104-118>

VIVEIROS, A. T. M.; NASCIMENTO, A. F.; ORFÃO, L. H.; ISAÚ, Z. A. Motility and fertility of the subtropical freshwater fish streaked prochilod (*Prochilodus lineatus*) sperm cryopreserved in powdered coconut water. **Theriogenology**, v. 74, n. 40, p. 551-56, 2010.

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