

Características seminais do cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*) *Seminal characteristics of "cascudo-preto" (Rhinelepis aspera)*

E.A. Sanches^{1,3}, R.A. Bombardelli², D.M. Baggio², R.M. Sykora², A.M.M. Xavier²

¹Aluno do Curso de Pós-Graduação, Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, Brasil.

²Curso de Engenharia de Pesca, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, PR, Brasil.

³Correspondência: eduanches@hotmail.com

Resumo

O objetivo do presente experimento foi avaliar as características seminais do cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*); para tanto, foram utilizados 43 machos ($1.144,5 \pm 179,34$ g), submetidos à hipofiseção ($5,5$ mg/kg). Os machos liberaram $9,91 \pm 9,23$ mL de sêmen, correspondendo a $8,62 \pm 7,60$ mL de sêmen/kg de reprodutor e pH de $9,39 \pm 0,21$. O tempo necessário para a perda da motilidade espermática de 50% dos espermatozoides foi de $42,21 \pm 7,70$ segundos. O sêmen apresentou $96,5 \pm 4,41\%$ de espermatozoides vivos e uma concentração de $2,10 \pm 0,37 \times 10^{10}$ espermatozoides/mL, garantindo uma produção média de $20,72 \pm 20,58 \times 10^{10}$ espermatozoides/macho.

Palavras-chave: espermatozoide, Loricariidae, peixe, reprodução, sêmen.

Abstract

The aim was to verify the seminal characteristics of "cascudo-preto" (*Rhinelepis aspera*). Was utilized 43 males (1144.5 ± 179.34 g), submitted to hypophysation (5.5 mg/kg). Males produced 9.91 ± 9.23 mL of semen, corresponding to 8.62 ± 7.60 mL semen/kg of male, and pH of 9.39 ± 0.21 . The time required for the loss of spermatic motility of 50% of the sperm was 42.21 ± 7.70 seconds. The semen had $96.5 \pm 4.41\%$ of live sperm cells and a concentration of $2.10 \pm 0.37 \times 10^{10}$ spermatozoa/mL, providing an average production of $20.7 \pm 20.581 \times 10^{10}$ spermatozoa/male.

Keywords: fish, Loricariidae, reproduction, semen, spermatozoa.

Introdução

O cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*, Agassiz, 1829) é uma espécie de peixe pertencente à família Loricariidae (Delariva e Agostinho, 2001). No Brasil, ele é encontrado nas bacias dos rios São Francisco e Paraná (Armbruster, 1998). É uma espécie reofílica, que apresenta reprodução restrita em ambientes lóticos (Suzuki et al., 2000), e está entre as espécies reofílicas que têm sofrido diminuição de suas populações naturais, devido principalmente à redução dos estoques pesqueiros (Miranda et al., 2000), provocada pela destruição de habitats, obstrução de rotas migratórias, poluição e sobrepesca (Soares et al., 1997). Além disso, estudos revelam sua importância tanto na pesca artesanal quanto na comercial, já que foi uma das espécies mais capturadas nas bacias dos rios Paraná (Agostinho et al., 1995) e São Francisco (Godinho e Godinho, 2003). Tal fato torna a espécie ameaçada de desaparecimento em algumas regiões do Brasil (Mikich e Bérnils, 2004).

Desta forma, uma alternativa para a manutenção de seus estoques naturais pode ser o emprego da reprodução em condições artificiais, tendo importância tanto no aspecto comercial, para desenvolvimento de pacotes tecnológicos para sua produção em cativeiro (López, 2005), quanto para a conservação da biodiversidade em programas de repovoamento (Carolsfeld et al., 2003; Viveiros e Godinho, 2009) e recrutamento dos estoques pesqueiros (Agostinho et al., 1995). Para tanto, é importante o desenvolvimento de tecnologia aplicada que garanta o sucesso na reprodução, assim como o conhecimento básico da biologia reprodutiva e da qualidade dos gametas.

Em peixes, normalmente a preocupação com relação à qualidade dos gametas é limitada à qualidade dos ovócitos, estando a produção de gametas masculinos de qualidade em segundo plano (Rurangwa et al., 2004). A qualidade do esperma é determinada pela sua habilidade em fertilizar com sucesso um ovócito (Bobe e Labbé, 2009). Portanto, todo parâmetro físico que estiver correlacionado direta ou indiretamente com a capacidade de fertilização pode ser usado como uma medida da qualidade do esperma (Flogli da Silveira et al., 1988; Rurangwa et al., 2004).

O conhecimento das características seminais é fundamental na rotina de reprodução artificial, pois permite a utilização do uso racional de gametas (Bombardelli et al., 2006a), bem como do número de reprodutores (Fogli da Silveira et al., 1985).

Diante disso, o objetivo do presente experimento foi avaliar e caracterizar quali-quantitativamente o sêmen do cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*).

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Tecnologia da Reprodução dos Animais Aquáticos Cultiváveis (LATRAAC) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), instalado no Centro de Pesquisas em Aquicultura Ambiental (CPAA) em Toledo/PR (24°46'48.31''S; 53°43'25.77''O). Foram utilizados 43 reprodutores machos de cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*) obtidos da natureza e estocados no Centro de Pesquisa, em viveiros escavados, revestidos em alvenaria e com dimensão de 200m².

No período reprodutivo, selecionaram-se, no viveiro de criação, machos que liberavam esperma sob leve pressão abdominal. Após a seleção, os reprodutores foram levados ao laboratório, onde foram pesados, marcados e separados em lotes de cinco peixes, em caixas circulares de 1.500L, com renovação constante de água (750L/hora), provenientes de um viveiro da estação. Os animais foram induzidos hormonalmente à espermição por meio de uma única dose de 5,5mg de extrato pituitário de carpa/kg de reprodutor (Woyanovich e Hortváth, 1983). As aplicações hormonais foram realizadas de forma intraperitoneal, abaixo da nadadeira peitoral. A coleta dos gametas masculinos foi feita após um período de 240 horas-grau (somatória da temperatura da água em função do tempo), contadas a partir da indução hormonal.

Para as coletas individuais de sêmen, os animais foram contidos e secos com pano e papel- toalha. Com a garantia de a papila genital estar seca, foi aplicada individualmente massagem na região abdominal do animal, sempre no sentido cefalo-caudal. A primeira gota de sêmen foi desprezada para evitar possível contaminação com urina, sendo o restante do sêmen coletado a partir de um tubo de ensaio graduado de 10,0mL, para mensuração do volume total liberado de cada macho.

Para a manipulação do sêmen, utilizou-se o procedimento descrito por Asturiano et al. (2001), em que o material colhido foi conservado sob resfriamento (12°C) durante 30 minutos, período necessário para a realização das avaliações seminais e espermáticas.

Para o sêmen proveniente de cada reprodutor, realizaram-se as análises do tempo de duração da motilidade espermática, do pH seminal, do índice de sobrevivência e da concentração espermática.

O tempo de duração da motilidade espermática foi analisado conforme Sanches et al. (2009). Para tanto, o procedimento constituiu na diluição de 5µL de sêmen, em 200 L de solução ativadora (água) a 28°C, resultando em uma diluição sêmen:água de 0,025 ou 1:40. Após a diluição, utilizaram-se 5µL da mistura para a avaliação, em microscópio de luz (40X), do tempo necessário para que aproximadamente 50% dos espermatozoides perdessem a motilidade.

O pH seminal foi mensurado pelo método colorimétrico em papel tornassol e posteriormente comparado em um padrão de cores.

O índice de sobrevivência espermática foi mensurado pelo método de coloração eosina-nigrosina, adaptado de Blom (1950), utilizando-se 30µL de sêmen e 90µL de cada corante (eosina azul 3% e nigrosina 5%), para a realização de uma mistura e posteriormente a confecção do esfregaço com 10µL de material. Após o processamento das lâminas, o material foi analisado em microscópio de luz em objetiva de 40X (Murgas et al., 2003), sendo contados 400 espermatozoides, onde células mortas apresentaram-se rosadas devido à absorção dos corantes e, os vivos por serem impermeáveis aos corantes não foram corados (Kavamoto e Fogli da Silveira, 1986).

A mensuração da concentração espermática do sêmen foi realizada utilizando-se o método da contagem de células espermáticas (Streit Jr. et al., 2004b), em câmara hematómica de Neubauer (Wirtz e Steinmann, 2006). Para a mensuração da concentração espermática, foi utilizada uma amostra contendo 3µL do sêmen diluído em 3mL de formol salina tamponado (Streit Jr. et al., 2004a), resultando na diluição de 1:1000 (Bombardelli et al., 2006a). A concentração espermática foi calculada conforme recomendado pelo CBRA (Manual..., 1998) para sêmen de mamíferos, seguindo a equação:

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

SPZ = espermatozóides
 \sum SPZ = número total de espermatozoides contados
q.c. = quadriculas contados
q.t. = quadriculas totais
profundidade da câmara = 0,10mm
diluição = fator de diluição do sêmen pelo fixador

Resultados e Discussão

Em comparação com outras espécies, o cascudo-preto apresenta alta produção seminal (Tab. 1), sendo superior à piabanha (*Brycon insignis*), com produção seminal de 4,68mL (Andrade-Talmelli et al., 2001), e ao matrinxã (*Brycon cephalus*), com 4,0mL (Ninhaus-Silveira et al., 2006). Em estudos com o curimba (*Prochilodus lineatus*), Streit Jr. et al. (2004b) encontraram produção relativa de sêmen de 1,80 mL/kg de reprodutor. Bombardelli et al. (2006a) observaram para o jundiá (*Rhamdia quelen*), $36,0 \pm 8,0$ mL de sêmen/kg de reprodutor. Estas diferenças interespecíficas são comumente verificadas em peixes (Godinho, 2007; Viveiros e Godinho, 2009). Além disso, as variações quanto ao volume de sêmen liberado podem sofrer mudanças em função do método de colheita, pois o método de extrusão não garante a liberação total do sêmen presente nas gônadas (Ferreira et al., 2001).

Os resultados do pH seminal (Tab. 1) foram superiores aos encontrados por Bombardelli et al. (2010) para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), com valores entre 7,49 e 7,70. Tal variável está diretamente relacionada com a quantidade de constituintes inorgânicos presente no plasma seminal, os quais apresentam relações diretas com a osmolaridade presente na mistura sêmen: solução ativadora, influenciando a motilidade espermática (Rurangwa et al., 2004; Alavi e Cosson, 2005).

Tabela 1. Peso corporal e parâmetros seminais e espermáticos em reprodutores de cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*).

Variáveis*	Média	Mínimo	Máximo	D.P.	E.P.	C.V. (%)
Peso (g)	1144,53	822,00	1563,00	179,34	27,35	15,67
Volume ejaculado (mL)	9,91	0,60	44,20	9,23	1,41	93,14
Volume seminal relativo (mL.kg de reprodutor ⁻¹)	8,62	0,59	38,77	7,60	1,16	88,13
pH seminal	9,39	9,00	9,50	0,21	0,03	2,23
Tempo de duração das motilidade espermática (s)	42,21	29,54	63,31	7,70	1,17	18,25
Índice de sobrevivência espermática (%)	96,50	82,00	100,00	4,41	0,67	4,57
Concentração espermática (SPZ.mL ⁻¹) ($\times 10^{10}$)	2,10	1,30	2,83	0,37	0,06	17,73
Produção espermática (SPZ.macho ⁻¹) ($\times 10^{11}$)	2,07	0,15	10,48	2,06	3,14	99,35

*n = 43. D.P. - Desvio-padrão; E.P.- Erro-padrão; C.V. - Coeficiente de variação; SPZ - espermatozoides

O índice de sobrevivência espermática verificado para os espermatozoides de cascudo-preto no presente experimento (Tab. 1) permaneceu semelhante aos encontrados para outras espécies. Para o dourado (*Salminus brasiliensis*), Sanches et al. (2009) encontraram 91,95%. Para o jundiá (*Rhamdia quelen*), Bombardelli et al. (2006a) encontraram 96% das células espermáticas vivas. Souza (2007) observou para o curimatã (*Prochilodus lineatus*) $97,5 \pm 0,07\%$. Fogli da Silveira et al. (1990) evidenciaram para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) $89,10 \pm 4,05\%$.

Os valores do índice de sobrevivência espermática apresentam importantes implicações em relação ao número total de espermatozoides viáveis produzidos por reprodutor. Esta informação possibilita a seleção e manutenção de estoques de reprodutores com maior potencial reprodutivo. Além disso, seu conhecimento é fundamental para a determinação e o emprego do número de espermatozoides viáveis/ovócito (dose inseminante) necessário para otimizar o processo de fertilização artificial. De acordo com Bastardo et al. (2004), espermatozoides de boa qualidade são aqueles que apresentam índices superiores a 50% de sobrevivência. Entretanto, para o cascudo-preto mais estudos devem ser efetuados para determinar índices adequados deste parâmetro relacionados com o sucesso da fertilização artificial.

Apesar de haver na literatura semelhanças do tempo de duração da motilidade dos espermatozoides de cascudo-preto com outras espécies, algumas divergências nas metodologias empregadas para estas análises são observadas, pois alguns autores realizam estas mensurações considerando o tempo necessário para a perda de motilidade de 50 (Hilbig et al., 2008), 90 (Murgas et al., 2004) e 100% (Streit Jr. et al., 2006) dos espermatozoides.

Sanches et al. (2009) verificaram que, para o dourado (*Salminus brasiliensis*), o tempo necessário para a perda de motilidade após a ativação de aproximadamente 50% dos espermatozoides foi de $29,87 \pm 2,03$ a $38,11 \pm 0,90$ segundos. Hilbig et al. (2008), utilizando a mesma metodologia, observaram que o jundiá (*Rhamdia quelen*) apresentou tempo de duração da motilidade espermática de $23,9 \pm 2,7$ a $26,2 \pm 3,4$ segundos. Murgas et al. (2004) constataram que, em sêmen de piracanjuba (*Brycon obignyamus*), o tempo necessário para a perda de motilidade de aproximadamente 90% dos espermatozoides foi de $55,60 \pm 32,25$ segundos. Streit Jr. et al. (2006) observaram que, para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), o tempo necessário para a perda da motilidade de

100% dos espermatozoides foi de 50,3 e 52,4 segundos, em animais induzidos hormonalmente e não induzidos, respectivamente.

O tempo de duração da motilidade espermática é uma medida subjetiva de grande utilidade na reprodução artificial de peixes, pois, além de determinar a viabilidade espermática, permite o controle do tempo necessário para realizar a mistura dos gametas com o meio fertilizante (espermatozoides/ovócitos/água) no momento da reprodução artificial (Sanches et al., 2009). Além disso, a padronização destes valores é fundamental para a utilização dos espermatozoides como bioindicadores de poluição aquática (Kime e Nash, 1999), como, por exemplo, o efeito da contaminação da água por metais pesados sobre a movimentação espermática (Hilbig et al., 2008).

Grandes variações da concentração espermática também são evidenciadas entre as espécies nativas brasileiras. O curimba (*Prochilodus lineatus*) apresentou $27,36 \pm 5,32 \times 10^9$ SPZ/mL (Murgas. et al., 2007), e a piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) $8,21 \pm 2,26 \times 10^9$ SPZ/mL (Murgas et al., 2004). Maria et al. (2004) observaram para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) uma concentração espermática de $13,89 \pm 1,26 \times 10^9$ SPZ/mL. Estas mensurações são importantes no sentido de oferecer informações básicas para o desenvolvimento de estratégias de reprodução artificial em peixes, como a seleção de animais com bom potencial reprodutivo e o emprego de doses inseminantes adequadas para cada espécie. Essas estratégias, além de aumentarem as taxas de fertilização de ovócitos, oferecem bases para o dimensionamento do plantel de reprodutores e consequente redução de custos em piscicultura.

As variações verificadas entre espécies quanto à qualidade e à quantidade seminal produzida são normalmente evidenciadas em peixes (Godinho, 2007; Viveiros e Godinho, 2009). São diversos os fatores que influenciam estes parâmetros, como: tamanho do indivíduo (Luz et al., 2001), idade dos reprodutores (Bastardo et al., 2004), metodologia de coleta (Ferreira et al., 2001), realização de sucessivas coletas seminais (Kavamoto et al., 1997), época do ano (Borges et al., 2005), realização de indução hormonal (Kavamoto e Fogli da Silveira, 1986), hormônios aplicados durante o processo de indução hormonal (Streit Jr. et al., 2003; Zaniboni Filho e Weingartner, 2007) e processo endócrino (Bombardelli et al., 2006b). Além disso, a ativação espermática é afetada por diversos fatores, como: a aplicação de diferentes soluções ativadoras (Carolsfeld et al., 2003), o emprego de diferentes relações de diluição do sêmen (Lahnsteiner et al., 2003), as soluções ativadoras contendo diferentes concentrações osmóticas e iônicas (Alavi e Cosson, 2006), em diferentes temperaturas, pH (Alavi e Cosson, 2005) e com presença de contaminantes ou substâncias tóxicas (Kime e Nash, 1999; Hilbig et al., 2008).

Conclusão

O cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*) apresenta características seminais e espermáticas, quantitativas e qualitativas, positivas para o emprego em programas de reprodução artificial e/ou bancos genéticos *in vitro* ou *in vivo*.

Referências bibliográficas

- Agostinho AA, Matsuura Y, Okada EK, Nakatani K.** The catfish, *Rhinelepis aspera* (Teleostei; Loricariidae), in the Guaíra region of the Paraná River: an example of population estimation from cath-effort and tagging data when emigration and immigration are high. *Fish Res*, v.23, p.333-344, 1995.
- Alavi SMH, Cosson J.** Sperm motility in fishes. (I) Effects of temperature and pH: a review. *Cell Biol Int*, v.29, p.101-110, 2005.
- Alavi SMH, Cosson J.** Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: a review. *Cell Biol Int*, v.30, p.1-14, 2006.
- Andrade-Talmelli EF, Kavamoto ET, Fenerich-Verani N.** Características seminais da piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1876), após estimulação hormonal. *Bol Inst Pesca*, v.27, p.149-154, 2001.
- Armbruster JW.** Phylogenetic relationships of the suckermouth armored catfishes of *Rhinelepis* group (Loricariidae: Hypostominae). *Copeia*, n.3, p.620-636, 1998.
- Asturiano JF, Sorbera LA, Carrilo M, Zanuy S, Ramos J, Navarro JC, Bromage N.** Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA - enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture*, v.194, p.173-190, 2001.
- Bastardo H, Guedez C, León M.** Características del semen de trucha arco-iris de diferentes edades, bajo condiciones de cultivo en Mérida, Venezuela. *Zootec Trop*, v.22, p.277-288, 2004.
- Blom EA.** One-minute live-dead sperm stain by means of Eosin-Nigrosin. *Fertil Steril*, v.1, p.176-177, 1950.
- Bohe J, Labbé C.** Egg and sperm quality in fish. *Gen Comp Endocrinol*, 2009. Doi:10.1016/j.ygcen.2009.02.011.
- Bombardelli RA, Hayashi C, Natali MRM, Sanches EA, Piana PA.** Níveis de energia digestível sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e deposição de lipídio nos hepatócitos de machos de tilápia-do-Nilo. *Rev Bras Zootec*, v.39, p.941-949, 2010.
- Bombardelli RA, Mörschbacher EF, Campagnolo R, Sanches EA, Syperreck MA.** Dose inseminante para

- fertilização artificial de ovócitos de jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). *Rev Bras Zootec*, v.35, p.1251-1257, 2006a.
- Bombardelli RA, Syperrek MA, Sanches EA.** Hormônio liberador de gonadotrofinas em peixes: aspectos básicos e suas aplicações. *Arq Ciênc Vet Zool Unipar*, v.9, p.59-65, 2006b.
- Borges A, Siqueira DR, Jurinitz DF, Zanini R, Amaral F, Grillo ML, Oberst ER, Wassermann GF.** Biochemical composition of seminal plasma and annual variations in semen characteristics of jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pimelodidae). *Fish Physiol Biochem*, v.31, p.45-53, 2005.
- Carolsfeld J, Godinho HP, Zaniboni Filho E, Harvey BJ.** Cryopreservation of sperm in Brazilian migratory fish conservation. *J Fish Biol*, v.63, p.472-489, 2003.
- Delariva RL, Agostinho AA.** Relationship between morphology and diets of sixneotropical loricariids. *J Fish Biol*, v.58, p.832-847, 2001.
- Ferreira AA, Nuñez APO, Luz RK, Reynalte Tataje D, Esquivel JR, Restrepo JB.** Avaliação qualitativa e quantitativa do sêmen de jundiá, *Rhamdia quelen*. *Bol Inst Pesca*, v.27, p.57-60, 2001.
- Fogli da Silveira W, Kavamoto ET, Cestaroli MA, Godinho HM, Ramos SM, Ninhaus Silveira A.** Avaliação espermática, preservação criogênica e fertilidade do sêmen do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), proveniente de reprodução induzida. *Bol Inst Pesca*, v.17, p.1-13, 1990.
- Fogli da Silveira W, Kavamoto ET, Narahara MY.** Avaliação da qualidade e crio - preservação em forma de "pellets" do sêmen de bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840), *Bol Inst Pesca*, v.12, p.7-11, 1985.
- Fogli da Silveira W, Kavamoto ET, Rigolino MG, Tabata YAO.** Fertilidade do sêmen de truta arco-íris, *Salmo irideus* gibbons, em diferentes concentrações de espermatozoides por óvulo. *Bol Inst Pesca*, v.15, p.51-54, 1988.
- Godinho HP.** Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. *Rev Bras Reprod Anim*, v.31, p.351-360, 2007.
- Godinho AL, Godinho HP.** Breve visão do São Francisco. In: Godinho HP, Godinho AL (Ed.). *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas, 2003. p.15-24.
- Hilbig CC, Bombardelli RA, Sanches EA, Oliveira JD, Baggio DM, Souza BE.** Efeito do chumbo sobre a fertilização artificial e incubação de ovos de jundiá cinza (*Rhamdia quelen*). *Acta Sci Anim Sci*, v.30, p.217-224, 2008.
- Kavamoto ET, Fogli da Silveira W.** Características físicas, químicas e microscópicas do sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) em condições de campo. *Bol Inst Pesca*, v.13, p.95-100, 1986.
- Kavamoto ET, Mainardes-Pinto CSR, Andrade-Talmelli EF, Campos BES.** Produção espermática do curimatá *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881. *Bol Inst Pesca*, v.24, p.73-78, 1997.
- Kime DE, Nash JP.** Gamete viability as an indicator of reproductive endocrine disruption in fish. *Sci Total Environ*, v.233, p.123-129, 1999.
- Lahnsteiner F, Berger B, Weismann T.** Effects of media, fertilization technique, extender, straw volume, and sperm to egg ratio on hatchability of cyprinid embryos, using cryopreserved semen. *Theriogenology*, v.60, p.829-841, 2003.
- López CM.** *Crescimento de larvas de cascudo-preto (Rhinelepis aspera) Spix & Agassiz, 1829 (Osteichthyes: Siluriformes, Loricariidae), submetidos a diferentes dietas alimentares*. 2005. 45f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Centro de Aquicultura, Jaboticabal, SP, 2005.
- Luz RK, Ferreira AA, Reynalte-Tajate DA, Zaniboni Filho E.** Avaliação qualitativa e quantitativa do sêmen do suruvi, *Steindachneridion scripta* (pimelodidae). *Bol Inst Pesca*, v.27, p.39-42, 2001.
- Manual para exames andrológicos e avaliação de sêmen animal.** 2.ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.
- Maria AN, Murgas LDS, Barbosa Silva MO, Miliorini AB, Franciscatto RT, Logato PVR.** Influência da adição de iodeto de potássio e citrato de sódio na qualidade do sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus* - Holmberg, 1887). *Ciênc Agrotéc*, v.28, p.191-194, 2004.
- Mikich SB, Bérnils RS.** *Livro vermelho da fauna ameaçada no Estado do Paraná*. Curitiba: IAP, 2004.
- Miranda LE, Agostinho AA, Gomes LC.** Appraisal of the selective properties of gill nets and the implications for yield and value of the fisheries at Itaipu Reservoir, Brazil-Paraguay. *Fish Res*, v.45, p.105-116, 2000.
- Murgas LDS, Franciscatto RT, Santos AGO.** Avaliação espermática pós-descongelamento em piracanjuba *Brycon orbignyanus*, Valenciennes, 1849). *Rev Bras Zootec*, v.32, supl.2, p.1810-1814, 2003
- Murgas LDS, Miliorini AB, Franciscatto RT, Maria AN.** Viabilidade espermática do sêmen de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) resfriado a 4°C. *Rev Bras Zootec*, v.33, p.1361-1365, 2004.
- Murgas LDS, Miliorini AB, Freitas RTF, Pereira GJM.** Criopreservação do sêmen de curimba (*Prochilodus lineatus*) mediante adição de diferentes diluidores, ativadores e crioprotetores. *Rev Bras Zootec*, v.36, p.526-531, 2007.
- Ninhaus-Silveira A, Foresti F, Veríssimo-Silveira R, Senhorini JA.** Seminal analysis, cryogenic preservation, and fertility in matrinxã fish, *Brycon cephalus* (Günther, 1869). *Braz Arch Biol Technol*, v.49, p.651-659, 2006.
- Rurangwa E, Kime DE, Ollevier F, Nash JP.** The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, v.234, p.1-28, 2004.

- Sanches EA, Bombardelli RA, Baggio DM, Souza BE.** Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de dourado. *Rev Bras Zootec*, v.38, p.2091-2098, 2009.
- Soares CM, Hayashi C, Furuya WM, Furuya VRB, Mranhão TCF.** Alimentação natural de larvas de cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*) em tanques de cultivo. *Bol Inst Pesca*, v.24, n.esp., p.109-117, 1997.
- Souza BE.** *Fertilização artificial de curimbatá Prochilodus lineatus*. 2007. 67f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Centro de Aquicultura, Jaboticabal, SP, 2007.
- Streit JR DP, Benites C, Moraes GV, Ribeiro RP, Sakaguti ES, Caldieri RF.** Características qualitativas do sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após indução hormonal. *Biosc J*, v.22, p.119-125, 2006.
- Streit JR DP, Moraes GV, Ribeiro RP, Caçador WC, Sakaguti ES, Povh JA, Souza ED.** Estudo comparativo da indução hormonal da espermiacção em piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) com extrato de hipófise de frango, coelho e carpa. *Acta Sci Anim Sci*, v.25, p.261-266, 2003.
- Streit Jr DP, Moraes GV, Ribeiro RP, Povh JA, Souza ED, Oliveira CAL.** Avaliação de diferentes técnicas para coloração de sêmen de peixes. *Arq Ciênc Vet Zoológ Unipar*, v.7, p.157-162, 2004a.
- Streit Jr. DP, Moraes GV, Ribeiro RP, Sakaguti ED, Souza ED, Povh JA, Caçador W.** Comparação do sêmen de Curimbá (*Prochilodus lineatus*) induzido por extrato de hipófise de frango, coelho ou carpa. *Braz J Vet Anim Sci*, v.41, p.147-153, 2004b.
- Suzuki HI, Agostinho AA, Winemiller KO.** Relationship between oocyte morphology and reproductive strategy in loricariid catfishes of the Paraná River, Brazil. *J Fish Biol*, v.57, p.791-807, 2000.
- Viveiros ATM, Godinho HP.** Sperm quality and cryopreservation of Brazilian freshwater fish species: a review. *Fish Physiol Biochem*, v.35, p.137-150, 2009.
- Wirtz S, Steinmann P.** Sperm characteristics in perch *Perca fluviatilis* L. *J Fish Biol*, v.68, p.1896-1902, 2006.
- Woynarovich E, Horváth L.** *The artificial propagation of warm-water finfishes: a manual for extension*. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1983. 220p.
- Zaniboni Filho E, Weingartner M.** Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. *Rev Bras Reprod Anim*, v.31, p.367-373, 2007.