

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE REPRODUTORES  
DE TAMBACUI *Colossoma macropomum* (CUVIER 1818)

PAULO AMARAL JÚNIOR

MANAUS

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS

PAULO AMARAL JÚNIOR

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE REPRODUTORES  
DE TAMBACUI *Colossoma macropomum* (CUVIER 1818)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Pesqueiras, área de concentração Tecnologia de Uso dos Recursos Pesqueiros

Orientador: Prof. Dr. Wallice Luiz Paxiúba Duncan

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Lúcia Gomes

MANAUS

2017

## Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A485a Amaral Junior, Paulo  
Avaliação dos parâmetros reprodutivos de reprodutores de Tambaqui *Collossoma macropomum* (Cuvier 1818) / Paulo Amaral Junior. 2017  
57 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Wallice Luiz Paxiúba Duncan  
Coorientadora: Ana Lúcia Gomes  
Dissertação (Mestrado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) - Universidade Federal do Amazonas.

1. reprodução de peixe. 2. sêmen. 3. fertilização. 4. temperatura.  
I. Duncan, Wallice Luiz Paxiúba II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

PAULO AMARAL JÚNIOR

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE MATRIZES DE  
TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER 1818)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Pesqueiras, área de concentração Tecnologia de Uso dos Recursos Pesqueiros

Aprovado em 13 de Outubro de 2017

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Alzira Miranda de Oliveira

Universidade Nilton Lins

Prof. Dr. José Fernando Marques Barcellos

Universidade Federal do Amazonas

Profa. Dra. Marle Angélica Villacorta Corrêa

Universidade Federal do Amazonas

## *DEDICATÓRIA*

*A Deus, pelo dom da vida, da sabedoria e conhecimento;*

*Aos meus amados pais, Paulo e Helena, que me educaram e incentivaram;*

*A minha irmã, Vittória;*

*A meus familiares, avós, tios, tias, primos e primas.*

*A minha namorada, Nayana, pelo amor, auxílio e incentivo.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Universidade Federal do Amazonas, pela oportunidade.

Ao PPG Cipep, em especial a Coord. prof. Kedma Yamamoto pela paciência e ajuda diante dessa caminhada.

Aos professores do PPG-CIPET, que contribuíram na transmissão do conhecimento e na formação desse trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Wallace Duncan pelas orientações e ensinamentos.

Aos membros da banca de qualificação, Fernando, Adriano e Akemi pela avaliação ímpar.

A Dra. Fernanda Loureiro, pelo incentivo ao intercâmbio junto a Embrapa Tabuleiros Costeiros – Aracaju.

Ao Prof. Dr. Alexandre Nízio Maria – Embrapa Tabuleiros Costeiros, pelo ótimo treinamento em seu Laboratório de Reprodução Animal.

A todos os integrantes do Laboratório de Reprodução de Animal, em especial ao Danillo, pela atenção e auxílio no treinamento das análises espermáticas.

Ao Prof. Dr. Fernando Marques, pela orientação, ajuda e pelo ser humano que és. Sou eternamente grato!

A Mestra e futura Doutora em Linguística, Yonara Cristina, pelas revisões e correções.

Ao Mestre Eng. De Pesca Guilherme Freire, pela ajuda com os programas estatísticos.

A Profa. Dra. Ana Lúcia Gomes, pela ajuda em conseguir autorização para realizar o trabalho no CTTPAQ.

Ao Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura – CTTPAQ, Sr. Geraldo Benardino, Baracho e em especial aos colegas Ronã, André, Antônia, Leôncio e aos demais que se dispuseram e auxiliaram durante todas as coletas.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela bolsa de estudos.

Aos colegas de turma do PPG-CIPET, pelos conselhos e ideias.

A Ecology, em especial a Joana e Bruno, que permitiram minha ausência das funções da empresa durante minha passagem pela empresa e todos os amigos pelo incentivo e torcida em especial ao Leandro, Charles, Rayane, Isaac, Aroldo, Lucas, Fernanda, Germano, Maélison, Diego Mr. Been.

A todos os amigos e colegas não mencionados que de alguma forma colaboraram durante este trabalho e aqueles que estiveram presentes através de uma conversa, umas palavras, meus eternos agradecimentos!

Obrigado por todo o apoio e por terem comemorado a cada etapa conquistada!

*Sem sacrifício não há vitória*

*Optimus Prime*

## RESUMO

A avaliação dos parâmetros reprodutivos que influenciam no desempenho da reprodução são de grande importância para a determinação da eficiência reprodutiva e do conhecimento da qualidade dos gametas. O objetivo desse trabalho foi analisar a qualidade dos gametas das matrizes de tambaqui *Colossoma macropomum* e verificar seus efeitos sobre os parâmetros reprodutivos e sua influência sobre o desempenho da reprodução. O estudo foi realizado no Centro de Tecnologia e Produção de Balbina – CTPA, localizado na Vila de Balbina no município de Presidente Figueiredo/AM. Foram estudados dois lotes de matrizes de tambaqui: Lote Cativo – sendo avaliados 8 machos e 6 fêmeas com peso médio  $6,63 \pm 1,061$  Kg e  $9,00 \pm 0,894$  Kg, respectivamente. Lote Selvagem – sendo avaliados 8 machos e 6 fêmeas com peso médio  $5,75 \pm 1,282$  Kg e  $8,33 \pm 1,506$  Kg, respectivamente. As coletas ocorreram no período de reprodução da espécie entre outubro de 2016 a janeiro de 2017. Foram coletadas amostras de sêmen e oócito de cada matriz para análise das variáveis e características dos gametas como volume de sêmen (mL), taxa de espermição (%), motilidade (%), tempo de motilidade (s), concentração de espermatozoides (células/mL), morfologia (%normais) e viabilidade do sêmen (%), e nas fêmeas o diâmetro do oócito e taxa de desova. A taxa de fertilização foi calculada para avaliar o desempenho reprodutivo dos peixes. Quanto às variáveis físicas e químicas da água, tais como temperatura,  $O_2$  dissolvido e pH das incubadoras, não foram estatisticamente diferentes durante todo o período de coleta. Não foram verificadas diferenças significativas entre o peso das matrizes e as variáveis de qualidade espermática entre os lotes, exceto na concentração de espermatozoides e no número total de espermatozóides. A taxa de fertilização entre os dois lotes não foi diferente. Para o desempenho reprodutivo das fêmeas não foram encontradas diferenças significativas entre os lotes para as variáveis de peso das fêmeas, peso da desova, taxa de fertilização e morfometria dos oócitos. Para as variáveis do desempenho reprodutivo entre as fêmeas não se observou correlações entre tais variáveis, exceto a relação entre a taxa de desova e o peso do peixe. A taxa de fertilização não estava correlacionada com as variáveis da qualidade espermática, desempenho reprodutivo das fêmeas e variáveis ambientais exceto para a temperatura que apresentou correlação significativa. Sendo assim, concluímos que os lotes de reprodutores possuem diferença na concentração de espermatozoide e no número total

de espermatozoides. O aumento da temperatura da água de incubação diminui a taxa de fertilização de tambaqui no CTTPAQ – Balbina.

## ABSTRACT

The evaluation of the reproductive parameters that influence the performance of the reproduction are of great importance for the determination of the reproductive efficiency and the knowledge of the quality of the gametes. The objective of this work was to analyze the quality of the gametes of the tambaqui *Colossoma macropomum* matrices and to verify their effects on the reproductive parameters and their influence on the reproduction performance. The study was carried out at the Balbina Technology and Production Center - CTPA, located in the village of Balbina in the municipality of Presidente Figueiredo / AM. Two batches of tambaqui matings were studied: Captivity lot – were evaluated 8 males and 6 females with a mean weight of  $6.63 \pm 1.061$  kg and  $9.00 \pm 0.894$  kg, respectively. Wild lot - were evaluated 8 males and 6 females with average weight  $5.75 \pm 1.282$  kg and  $8.33 \pm 1.506$  kg respectively. The collections occurred during the breeding period of the species between October 2016 and January 2017. Samples were collected from semen and oocytes from each matrix to analyze the characteristics of the gametes, such as semen volume (mL), sperm count (%), motility (%), Motile time (s), sperm concentration (cells / mL), morphology (% normal) and semen viability (%), and females oocyte diameter and spawning rate. The fertilization rate was calculated to evaluate the reproductive performance of the fish. As the physical and chemical variables of the water, such as temperature, dissolved O<sub>2</sub> and pH of the incubators, were not statistically different during the whole collection period. There was no significant difference between the weight of the matrices and the variables of sperm quality among the lots, except for the sperm concentration and the total number of spermatozoa. The fertilization rate between the two lots was no different. For the reproductive performance of the females, no significant differences were found between the lots for the variables of females weight, spawn weight, fertilization rate and oocyte morphometry. For the variables of reproductive performance among females, no correlation was observed between these parameters, except the relation between spawning rate and fish weight. The fertilization rate was not correlated with the variables of sperm quality, reproductive performance of females and environmental variables except for the temperature that showed a significant correlation. Thus, we conclude that breeding lots have a difference in sperm concentration and total sperm count. Increasing the

temperature of the incubation water decreases the tambaqui fertilization rate in CTTPAQ - Balbina.

## Sumário

<b>1. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1. A Piscicultura no Brasil .....</b>	<b>16</b>
<b>1.2. O Tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> (Cuvier, 1818) .....</b>	<b>17</b>
<b>1.3. Reprodução do Tambaqui .....</b>	<b>18</b>
<b>1.4. Tecnologias Aplicadas ao Manejo de Reprodutores .....</b>	<b>19</b>
<b>1.5. Avaliação da Qualidade Espermática .....</b>	<b>22</b>
<b>1.6. Avaliação do Desempenho Reprodutivo de Fêmeas .....</b>	<b>23</b>
<b>2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>26</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>33</b>
<b>3.1. Objetivo Geral.....</b>	<b>33</b>
<b>3.2. Objetivos Específicos.....</b>	<b>33</b>
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>34</b>
<b>AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE MATRIZES DE TAMBAQUI <i>Colossoma macropomum</i> (CUVIER 1818) .....</b>	<b>35</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>35</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>36</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>36</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>38</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>52</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A aquicultura tem sido o setor de produção de alimentos que mais cresceu no mundo de acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* – FAO. Essa organização estimou que a produção mundial através da pesca de captura e da aquicultura atingisse os 160 milhões de toneladas em 2013 contra os 157 milhões do ano anterior (FAO, 2014).

Ainda segundo a FAO (2014), a produção mundial está fortemente representada pelos países asiáticos como a China, Índia, Indonésia, Filipinas, Vietnã, Coréia do Sul, Tailândia, Japão e Bangladesh, que corresponderam a 91,36% de todo o volume produzido em 2012. Os demais continentes como Europa, América do Sul, América do Norte e Central, África e Oceania correspondem então a menos dos 9% restante, tendo destaque para a Noruega, Chile, Egito e Brasil.

No Brasil a produção aquícola foi totalizada em 593.881,925 toneladas em 2016. Nesse ano, somente a piscicultura produziu 507.121,920 toneladas, significando 85,4% da produção nacional. Do total produzido pela piscicultura, as tilápias constituem 47,1% da produção nacional, demonstrando assim seu potencial produtivo justificado pelo aporte tecnológico existente para o cultivo, enquanto o tambaqui (*Colossoma macropomum*) encontra-se na segunda posição do ranking da produção com 136.991,478 toneladas (27,0% do volume produzido) em 2016 representando aumento de 0,2% em relação ao ano anterior (IBGE, 2016).

A piscicultura na Amazônia é uma atividade crescente, com maior importância socioeconômica para o aumento da produção de alimentos, o que indiretamente ajuda na conservação dos estoques naturais. Porém ainda que os recursos pesqueiros sejam abundantes, a grande demanda pelo pescado contribui com a diminuição desses estoques naturais devido ao aumento do esforço de pesca, tornando-se assim a piscicultura como a principal atividade produtiva no fornecimento de pescado demandado pela população (SUFRAMA, 2003; FAO, 2010).

No Estado do Amazonas a produção de pescado em 2016 obteve redução de 0,06% em relação ao ano anterior que alcançou 22,64 mil toneladas de pescado. O tambaqui foi a principal espécie produzida pela piscicultura na região norte com despesa de 136,99 mil

toneladas onde o Município de Rio Preto da Eva (AM) foi o principal produtor nacional de peixes, obtendo destaque por atingir uma produção de 13,38 mil toneladas. Somente esse município foi responsável por 63% da produção do Estado nesse ano (IBGE, 2016).

Em consequência, a disponibilidade contínua de alevinos para subsidiar o aumento dessa produção de pescado está ligada com a máxima utilização dos gametas. Isso significa aumentar a fertilização ovocitária com a menor quantidade de espermatozoides e melhorar a técnicas durante o manejo reprodutivo (BILLARD *et al.* 1995).

É fundamental na aquicultura o controle da reprodução e para tal, um dos fatores limitantes para o bom desenvolvimento reprodutivo é a qualidade dos gametas. No ambiente natural ou de cultivo essa qualidade é influenciada por muitos fatores e alguns altamente variáveis como, fatores nutricionais, ambientais (temperatura e fotoperíodo), dose hormonal para indução, estresses causados pelo manejo pré reprodutivo e reprodutivo, além de outros fatores importantes como, poluição, qualidade da água dos viveiros e das incubadoras e parentesco das matrizes (BOBE e LABBÉ, 2010).

Sendo assim, a avaliação dos parâmetros reprodutivos que influenciam no desempenho da reprodução são de grande importância para a determinação da eficiência reprodutiva e do conhecimento da qualidade dos gametas. O sêmen é fundamental para o processo reprodutivo dos peixes, pois a contribuição do macho para a eficiência reprodutiva e da produção em cultivo é imprescindível. Variáveis como a concentração espermática, volume do ejaculado são de grande valia para o bom desempenho reprodutivo (SALGUEIRO e NUNES, 1999). Já para as fêmeas as principais características que devem ser observadas são: peso da desova, taxa de desova e tamanho dos ovócitos individuais (FAUVEL *et al.* 2010; BOBE e LABBÉ, 2010).

Portanto, conhecer a qualidade dos gametas das matrizes de tambaqui (*Colossoma macropomum*) do Centro de Tecnologia, Treinamento e Produção em Aquicultura de Balbina (CTTPAQ), a principal Estação de Reprodução do Amazonas, e verificar seus efeitos sobre os parâmetros reprodutivos e sua influência sobre o desempenho da reprodução poderá contribuir e otimizar o uso dos recursos biológicos e de infraestrutura disponíveis para a produção de alevinos, além de contribuir com o desenvolvimento tecnológico, sustentável e econômico desta atividade produtiva como um todo.

## **1. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **1.1. A Piscicultura no Brasil**

O cultivo de peixes centrava-se em espécies que se reproduziam naturalmente no ambiente, devido à dificuldade de induzir a reprodução de espécies reofílicas de maior valor comercial. Essa dificuldade atualmente pode ser considerada um benefício, pois permite que o alimento convertido seja direcionado ao ganho de massa e não ao desenvolvimento gonadal e comportamento reprodutivo (ZANIBONI FILHO e WEINGARTNER, 2007).

O desenvolvimento da piscicultura no Brasil, como em outros países, dependia da disponibilidade de alevinos para serem engordados e comercializados, ganhando força quando a técnica de indução hormonal por hipofiseação se consolidou no Brasil, essa técnica era desenvolvida desde a década de 30. Paralelamente, a capacidade de domesticação era outro aspecto importante devido a adaptação das espécies ao confinamento e ao manejo reprodutivo. Bastante relevante também foi o domínio do manejo da larvicultura das diferentes espécies cultivadas, o que para muitas espécies ainda é necessário desenvolver processos para diminuir perdas (ANDRADE e YASUI, 2003).

A piscicultura em relação a outras atividades, como a suinocultura e a avicultura, apresenta uma grande diversidade de espécies com potencial zootécnico. Dessa forma, a grande quantidade de espécies e características, como época e local de desova, variáveis físico-químicas do ambiente, fisiologia reprodutiva dentre outras, podem diferir, tornando um processo já consolidado para uma espécie mas inviável para outras.

No Brasil são reproduzidas e cultivadas mais de 50 espécies de peixes, nativas e exóticas. Entre as espécies mais cultivadas estão a tilápia representando 47,1%, seguida pelo tambaqui 27,0% e 8,9% pelos híbridos tambacu e tambatinga (IBGE, 2016). Dentre os motivos para tamanha riqueza de espécies estão as condições ambientais de cada região, que conduzem os piscicultores a trabalharem com espécies adaptadas a região e pela oferta de alevinos e os insumos. Outro fator é a demanda do mercado, aplicando forte influência na escolha dessas espécies.

A produção de alevinos com qualidade proporcionou o desenvolvimento da aquicultura, de modo que ao produzir maior quantidade de pescados estimulou o consumo, aumentando assim a demanda. Dessa forma, toda a cadeia produtiva, desde os fornecedores

de alevinos, equipamentos, insumos até os meios de comercialização, proporcionaram a geração de emprego e renda. O mercado mais competitivo ocasionou uma demanda por profissionais especializados e organização da atividade aquícola em sistemas de produção e comercialização compatíveis com o mercado nacional e internacional (MURGAS, *et al.* 2009).

### **1.2. O Tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)**

O Tambaqui *Colossoma macropomum* é nativo da bacia Amazônica e do Rio Orinoco, ocorre amplamente por seus rios e afluentes (Figura 01). Pertence a ordem Characiformes e a família Characidae. No Rio Amazonas é comumente encontrado, na foz do rio Xingu, Estado do Pará, até o médio rio Ucayali no Peru. (REIS, *et al.* 2003; ARAÚJO-LIMA e GOMES, 2005). O hábito alimentar é frugívoro quando adulto e onívoro na fase de juvenil consumindo sementes e zooplâncton como cladóceros, copépodas, insetos, larvas de quironomídeos e arroz silvestre, possui ainda uma coloração variando de amarelo para verde-oliva no dorso e preto no ventre (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1980; GOULDING e CARVALHO, 1982).



**Figura 01.** Exemplar adulto de Tambaqui *Colossoma macropomum*. Fonte: (CANTIZANI, 2012).

No Amazonas, o tambaqui está entre as espécies mais capturadas, por apresentar alto valor de mercado, alta demanda pela população e por apresentar características que potencializam sua produção (GANDRA, 2010). Suas boas características zootécnicas como crescimento rápido, tolerância à hipóxia, domesticação em ambiente de cultivo, carne

saborosa e hábito alimentar adaptativo ao arraçoamento agregam valor a sua produção piscícola (MENDONÇA *et al.*, 2009). Desse modo o tambaqui é a principal espécie criada na região norte 79,8%. Com participação de algumas pisciculturas pelo Brasil o tambaqui representa 27,0% do total de peixes produzidos em 2016, sendo desde 2011 a espécie de água doce com a maior produção pela aquicultura (MUNIZ *et al.*, 2008; BRASIL, 2012; MPA, 2012; IBGE, 2016).

### **1.3. Reprodução do Tambaqui**

O processo de recrutamento na natureza e a produção controlada na aquicultura são artifícios ligados com o sucesso reprodutivo, bem como a fertilização de oócitos maduros. Na natureza os gametas são liberados na água onde eles são então fertilizados (FAVEL *et al.*, 2010). Em ambiente natural o período de reprodução do tambaqui acontece de setembro a fevereiro com desovas ocorrendo entre os meses de setembro e outubro até janeiro e fevereiro (VILLACORTA-CORREA e SAINT-PAUL, 1999). Em ambientes artificiais, viveiros de piscicultura, a reprodução natural é inviabilizada devido ao tambaqui perder a capacidade de desovar naturalmente, sendo necessária a reprodução artificial com o uso de injeção exógena de hormônio liberador de gonadotrofina (SILVA *et al.*, 1981).

O manejo da reprodução artificial de peixes é bastante antigo, data-se em 1795 a técnica de reprodução artificial da truta, peixe reofílico não necessitando de indução hormonal, em que era feita a extrusão dos ovócitos e a fecundação externa a seco e posteriormente a incubação (ANDRADE e YASUI, 2003). As primeiras experiências com indução hormonal para desova de peixes reofílicos ocorreram na Argentina (HOUSSAY, 1930) e paralelamente no Brasil (LHERING, 1935), de modo que obtiveram resultados satisfatórios na indução de hormônio naturais presentes na hipófise de peixes maduros, para maturação final e desova de peixes migradores.

A hipofisação com extrato hipofisário de carpa comum *Cyprinus carpio* é o método mais utilizado em laboratórios de reprodução de peixes, cerca de 40 espécies economicamente e ecologicamente importantes no Brasil são induzidas com essa técnica de sucesso. Esses procedimentos são utilizados para que machos e fêmeas completem seu ciclo reprodutivo em condições desejadas e controladas. Nos machos provoca hidratação

testicular, facilitando a espermiação e aumentando o volume seminal (ZANIBONI-FILHO e WEINGARTNER, 2007).

No entanto, somente a hipofiseção como estímulo a desova dos reprodutores não é suficiente para produzir gametas com qualidade resultando em uma produção alta de alevinos. O aumento das tecnologias desenvolvidas para a reprodução como no manejo alimentar, reprodutivo e no controle dos fatores ambientais e de qualidade da água visam produzir alevinos de boa qualidade utilizando pequenos espaços e melhores aproveitamentos dos recursos disponíveis nos laboratórios de reprodução de peixes proporcionando maiores condições de viabilidade técnica e econômica aos empreendedores.

#### **1.4. Tecnologias Aplicadas ao Manejo de Reprodutores**

A aquicultura no Brasil atravessa um período de profissionalização do seu potencial voltado para a industrialização. Esse avanço enfatiza a organização da produção em função do volume necessário para comercialização e exportação em grande escala. Isso faz com que a produção de alevinos aumente cada vez mais, sendo obrigada a aprimorar as tecnologias de produção e desenvolvimento reprodutivo (ANDRADE e YASUI, 2003).

A maioria das espécies utilizadas na piscicultura durante o período reprodutivo são afetadas por fatores ambientais, havendo então a necessidade de aplicação de cuidados relacionados ao manejo dos reprodutores, a qualidade da água e no desenvolvimento de pacotes tecnológicos na nutrição, no desempenho produtivo e também no reprodutivo com o objetivo de melhorar a qualidade dos óvulos e de esperma para garantir maior produção no desenvolvimento de larvas e alevinos, que são setores com maior dificuldade (NAVARRO *et al.*, 2010).

Dentre esses manejos a alimentação é determinante. A subalimentação em quantidade e qualidade podem induzir a reabsorção vitelogênica dos ovócitos e numa baixa quantidade de ovócitos maduros. No desenvolvimento reprodutivo ocorre a absorção de nutrientes como as proteínas que correspondem ao item de maior importância na alimentação, estando presente no desenvolvimento do organismo animal e pela formação de enzimas, hormônios e de vitelo (COLARES DE MELO, 1989; HARVEY e CAROLSFELD, 1993; PEZZATO, 1995).

Por outro lado, matrizes alimentadas em excesso, com maior quantidade de gordura visceral, podem produzir ovócitos menores e diminuir o efeito do tratamento hormonal, visto ser o hormônio gonadotrófico lipófilo, ou seja, é capturado pelo tecido adiposo deixando de atuar sobre as gônadas (ARIAS-CASTELLANOS, 2002).

Em machos de *Oreochromis niloticus* os níveis de energia digestível das rações influenciaram os parâmetros espermáticos, o valor sugerido pelo modelo ajustado na análise de regressão múltipla da variável concentração espermática foi de 3.465,56 Kcal de energia digestível/Kg de ração resultando em uma concentração de  $7,98 \times 10^9$  espermatozoides.mL de sêmen. O modelo também sugeriu que rações com 3.443,43 Kcal de energia digestível/Kg de ração proporcionaram índices máximo de normalidade espermática 39,18%. Para tilápias, (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis de proteína 32 a 40% PB, durante a fase de maturação e no crescimento dos oócitos, os maiores níveis de proteína proporcionaram desenvolvimento gonadal precoce e maturação dos oócitos mais rapidamente do que em animais alimentados com níveis mais baixos (GUNASEKERA et al., 1996; BOMBARDELLI et al., 2010). Tais valores ainda não estão definidos para o Tambaqui.

Sendo assim, o manejo de reprodutores tem demonstrado a necessidade de alimentação de qualidade, especialmente no início do desenvolvimento gonadal e no período da vitelogênese, destacando a importância nutricional no desenvolvimento reprodutivo. A baixa eclodibilidade, diminuição na fertilização e baixa motilidade espermática são reflexos dessa deficiência nutricional e, por conseguinte, um manejo pré reprodutivo inadequado (NAVARRO et al., 2010).

Outro fator de manejo que pode causar influência negativa na qualidade dos gametas é a densidade de estocagem, que é resultado da baixa oferta de alimento e causa o estresse. Estudos com *Gadus morhua* mostram que houve redução do tamanho dos oócito no período reprodutivo, resultando, após a absorção do saco vitelino, em larvas com tamanho proporcional ao oócito. A densidade recomendada para peixes nativos é de 600 a 1000g/m<sup>2</sup> (ROMAGOSA et al., 1988; CHAMBERS e WAIWOOD, 1996; STREIT JR et al., 2012)

Nas estações de reprodução comercial, a qualidade e a quantidade de sêmen é muitas das vezes inadequada, pois nem sempre tem apresentado bons resultados na fertilização dos ovócitos. Apesar do número elevado de estudos voltados à produção de tambaqui, poucos

trabalhos foram realizados sobre o desempenho do processo reprodutivo relacionados com o tempo de vida útil e a produtividade de gametas pelas matrizes (RURANGWA *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2010).

Santos e Garcez (2015), avaliando o grau de relacionamento aplicado nas variáveis de idade e quantidade de gametas, observou que menores valores de oócitos produzidos estão relacionados as matrizes fêmeas mais velhas. E, jovens machos produziram volumes maiores de sêmen, podendo concluir que a produção de gametas apresenta-se inversamente proporcional a idade das matrizes.

Portanto, a idade é fator fundamental para a reprodução de tambaqui, mesmo quando outros fatores são controlados como a temperatura, durante o procedimento reprodutivo. Optar por matrizes mais jovens com relação ao consumo de hormônio na indução a desova é mais vantajoso, no entanto a produção de oócitos talvez não seja eficiente com relação a qualidade e quantidade de oócitos produzidos (ANDRADE e YASUI, 2003; SANTOS e GARCEZ, 2015).

O controle dos parâmetros ambientais nos tanques de cultivo permite o desenvolvimento adequado das espécies de forma quantitativa e qualitativa (ZANIBONI FILHO e WEINGARTNER, 2007). A temperatura, por exemplo, pode causar impactos negativos sobre a qualidade dos ovos, como a mortalidade e má formações embrionárias resultando em uma baixa taxa de fertilização e eclosão (HOKANSON *et al.*, 1973; BOBE e LABBÉ, 2010).

A faixa de temperatura indicada para a reprodução do tambaqui está entre 26°C e 29°C. No processo de incubação dos ovos, as variáveis como oxigênio, pH, dureza, alcalinidade também são essenciais como parâmetro da qualidade da água. O oxigênio tem como faixa ideal as concentrações entre 5 a 7 mg de oxigênio dissolvido/litro, dureza e alcalinidade superiores a 30 mg/L e pH entre 7 e 8. Nesse mesmo trabalho, a velocidade da água de abastecimento das incubadoras foi definida sendo nas primeiras horas da incubação a velocidade entre 1 e 2 L/min, posteriormente entre 3 e 4 L/min e na fase final entre 5 e 6 L/minuto (STREIT JR *et al.*, 2012).

O entendimento dos mecanismos ambientais e de manejo que regulam o ciclo reprodutivo dos peixes possibilita uma aplicação valiosa na piscicultura, dando ao técnico

condições de obter peixes maduros durante todo o ano, resultando na produção constante de alevinos (HARVEY e CAROLSFELD, 1993).

### 1.5. Avaliação da Qualidade Espermática

No processo reprodutivo, a qualidade espermática é fundamental devido a participação do macho, além de ter grande importância na eficiência reprodutiva e produtiva, e também do aporte genético, neles pode-se aplicar uma maior e mais rápida pressão na seleção. Parâmetros como a concentração espermática, aspecto e volume do ejaculado são de grande significância para o bom desempenho reprodutivo aliado a qualidade espermática como velocidade progressiva e percentual de células vivas (SALGUEIRO e NUNES, 1999).

Para alcançar altas taxas de fertilização, uma avaliação espermática deve ser realizada antes da fertilização dos ovócitos. Métodos de avaliação de qualidade espermática baseados na taxa de fertilização são amplamente utilizados na aquicultura (PAVLOV, 2006).

A concentração de espermatozoides no sêmen pode ser facilmente avaliada por diferentes técnicas tais como a contagem de microscopia, espectrofotometria, citometria de fluxo e determinação de valores espermatócrito (ALAVI *et al.*, 2008). Menezes *et al.*, (2003) encontraram a concentração espermática do tambaqui em  $35 \times 10^9$  espermatozoides.mL<sup>-1</sup> utilizando o método de contagem em câmara de Neubauer, enquanto Vieira *et al.*, (2011) obtiveram média de concentração de  $40,46 \times 10^9$  mL em estudo realizados em Pentecostes, Ceará, Brasil.

Um estudo realizado por Sanches *et al.*, (2011) comparando dois métodos de determinação, espermatócrito e em câmara de Neubauer, da concentração de espermatozóide, observou que para dourado (*Salminus brasiliensis*) e para Cascudo-Preto (*Rhinelepis aspera*) o método do espermatócrito pode ter sido influenciado por outras células liberadas junto com o sêmen como fragmentos do epitélio gonadal ou até hemácias provenientes de possíveis ações hemorrágicas não evidenciadas no momento da coleta de sêmen.

O volume do sêmen é influenciado por muitos fatores, como nutrição, peso, nível de maturidade, tipo e dosagem de hormônios e tempo entre as aplicações (MENEZES *et al.*, 2003; VIVEIROS e GODINHO, 2009). Vieira *et al.*, (2011) comparando a diferença entre tambaquis induzidos e não induzidos obtiveram valores médios de  $5,05 \pm 2,08$  mL para animais induzidos.

Sabe-se que há uma forte correlação entre a taxa de fertilização e motilidade espermática (RURANGWA *et al.*, 2001), um baixo percentual de motilidade ocasiona uma menor possibilidade do espermatozoide fecundar o ovócito. A avaliação da motilidade pode ser observada pelo método semi-quantitativo, de acordo com este método a motilidade é avaliada através de uma escala. Essa escala foi utilizada por Trippel, (2003), que avaliou a qualidade espermática em *Gadus morhua*, onde (0) representa todas as células inativas; (1) <5% da motilidade das células; (2) 5 – 29% de motilidade das células; (3) 30-79% de motilidade das células; (4) 79-95% de motilidade das células; e (5) >95% de motilidade das células.

A identificação de alterações morfológicas nos espermatozoides de reprodutores na reprodução é passo de seleção, uma vez que essas alterações informam sobre os problemas com os espermatozoides. Essa variável quantitativa pode ser usada como fator de qualidade espermática, estando também correlacionada diretamente com a capacidade de fecundação (BEIRÃO *et al.*, 2009).

As alterações morfológicas são classificadas como primárias, como por exemplo, flagelo dobrado, cabeça isolada, gotas citoplasmáticas proximal e distal que ocorrem durante a espermatogênese, por conta de enfermidades, consanguinidade, restrição alimentar e estresse ambiental e alterações secundárias que ocorrem durante os procedimentos de manejo durante a coleta do sêmen como flagelo quebrado, enrolado, degenerado, macrocefalia e microcefalia (HERMAN *et al.*, 1994).

Maria *et al.*, (2010), analisando anomalias nos espermatozoides de tambaqui obteve um total de 15,04%. Dentre essas anomalias estão o flagelo dobrado com 6,77% e peça intermediária degenerada com 2,10%. A hidratação ocasionada pela indução hormonal aumenta o volume de sêmen e facilita a coleta por meio da massagem abdominal.

#### **1.6. Avaliação do Desempenho Reprodutivo de Fêmeas**

Ao longo dos anos, o conhecimento da fisiologia da reprodução possibilitou a determinação de procedimentos de manejo que permitem a maturação gonadal dos peixes em cativeiro, assim como a indução dos processos de maturação final dos gametas e a subsequente fertilização (ZANIBONI FILHO e WEINGARTNER, 2007).

A eficiência reprodutiva depende de diversos fatores que atuam juntamente para que a reprodução venha resultar em um grande número de larvas saudáveis. Podemos citar, entre

os fatores, os cuidados que vão desde o manuseio e manutenção dos reprodutores no período pré-reprodução até o manejo dos ovos nas incubadoras (MURGAS *et al.*, 2011).

O desenvolvimento gonadal pode ser afetado significativamente pelas condições de cultivo, principalmente durante a fase de vitelogênese, a subalimentação em quantidade e qualidade, excessiva densidade de estocagem e estresse podem induzir à reabsorção de ovócitos vitelogênicos e numa baixa quantidade de ovócitos maduros (HARVEY e CAROLSFELD, 1993).

A alimentação adequada de matrizes é importante, visto que na maturação gonadal, cada ovócito incorpora vitelo, este fornecerá nutrientes e energia para o desenvolvimento larval (NIKOLSKII, 1969). Assim, matrizes mal alimentadas podem produzir ovos e larvas com quantidade e qualidade de vitelo insuficiente, o que poderá comprometer o sucesso reprodutivo gerando menores taxas de sobrevivência e baixo desempenho zootécnico (WOOTON, 1995; GUNASEKERA *et al.*, 1996). Por outro lado, matrizes alimentadas em excesso, com mais gordura visceral, podem produzir ovócitos menores e diminuir o efeito do tratamento hormonal, o hormônio gonadotrófico é lipófilo, ou seja, é capturado pelo tecido adiposo deixando de atuar sobre as gônadas (ARIAS-CASTELLANOS, 2002).

De modo geral, a qualidade dos gametas pode ser definida como a capacidade de fertilizar ou simplesmente ser fertilizado passando a desenvolver em um embrião normal (BOBE e LABBE, 2010).

A densidade de estocagem em tanques de matrizes é fato de grande importância no desempenho dos peixes, estando relacionado principalmente com a qualidade da água, disponibilidade de alimento durante o desenvolvimento gonadal, período no qual o peixe fica mais sensível (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Ao contrário disso, peixes que formam cardumes durante a fase de maturação gonadal e desova confirmam que a redução da biomassa estocada poderá influenciar negativamente o desenvolvimento das gônadas. Experimentos com *Piaractus mesopotamicus* com peso entre 2 e 3 kg, estocados em duas densidades (1 e 2 peixes/m<sup>2</sup>) ao longo do período de maturação gonadal, demonstrou que os peixes estocados em maior densidade foram mais eficientes na fecundidade (ROMAGOSA *et al.*, 1998).

Na avaliação do desempenho reprodutivo das fêmeas a avaliação da desova pode ser utilizado como um indicador desse desempenho. Os principais parâmetros para essa avaliação são a taxa de desova,  $(TD = (\text{peso da desova}/\text{peso da fêmea}) \times 100)$ , que indica o rendimento alcançado pela matriz na desova em relação ao peso corporal, o índice gonadossomático,  $(\text{peso da desova} + \text{peso dos ovários esgotados} \times 100 / \text{peso corporal})$ , que resulta na porcentagem que as gônadas representam do peso total da matriz que varia principalmente em função da espécie, do tipo de desova, do período do ano e das condições ambientais e de manejo existentes nas instalações dos laboratórios (MURGAS *et al.* 2011)

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAVI, S. M. H.; LINHART, O.; COWARD, K.; RODINA, M. Fish spermatology: implications for aquaculture management. in: Fish spermatology, S. M. H. Alavi, J. J. Cosson, K. Coward, G. Rafiee Eds. Alpha Science international Ltd, Oxford, pp. 397–460. ISBN 978-1-84265-369-2. 2008.

ANDRADE, D. R; YASUI, G. S. O manejo reprodutivo natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. Ver. Bras. Reprodu. Animal, v.27, n.2, p.166-172. 2003.

ARAUJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L.C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*) In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Eds). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: UFSM, p.67-104, 2005.

ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOULDING, M. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Tefé:Sociedade Civil Mamirauá; Brasília:CNPq, 186p, 1998.

ARIAS-CASTELLANOS, J. A.; VÁSQUEZ-TORRES, W.; PEREIRA FILHO, M. Estudo para composição de uma dieta referência semipurificada para avaliação de exigências nutricionais em juvenis de pirapitinga, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818). Ver. Bras. Zootec. Vol. 31. N. 1. Suppl. 0 Viçosa Jan./Feb. 2002.

ATLAS BRASIL. Região Metropolitana de Manaus. [www.atlasbrasil.org.br](http://www.atlasbrasil.org.br)

BEIRÃO, J.; SOARES, F.; HERRAEZ, MP.; DINIS, M.T.; CABRITA, E. Sperm quality evaluation in *Solea senegalensis* during the reproductive season at cellular level. Theriogenology, v.72, p.1251-1261, 2009.

BILLARD, R.; COSSON, J.; PERCHEC, J.; LINHART, O. Biology of sperm and artificial 442 reproduction in carp. Aquaculture 129, 95-112, 1995.

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

BOMBARDELLI, R. A.; HAYASHI, C.; NATALI, M. R. M.; SANCHES, E. A.; PIANA, P. A. Níveis de energia digestível sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e a deposição de lipídios nos hepatócitos de machos de Tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 39, n. 5, p. 941-949, 2010.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura p. 60. 2012.

CHAMBERS, R.C.; WAIWOOD, K.G. Maternal and seasonal differences in egg sizes and spawning characteristics of captive Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 1986-2003, 1996.

COLARES DE MELO, J. S. Influência do fotoperíodo sobre a maturação ovariana de mandi Pimelodus naluatus LACEPÉDE,1803, Boletim Técnico do CEPTA, 2(único), p. 13-18, 1989.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Informe nacional sobre a situação dos recursos fitogenéticos para a alimentação e a agricultura do Brasil*. 2008.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Opportunities and challenges, Rome, 243p, 2014.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Fisheries and Aquaculture Department. Rome, 2010.

FAUVEL, C.; SUQUET, M.; COSSON, J. Evaluation of fish quality, *J. Appl. Ichthyol.* 26 (2010), 636-643. 2010.

GALO, J. M. Avaliação da qualidade dos gametas de tambaqui (*Colossoma macropomum*) ao longo da estação reprodutiva. Tese (doutorado em zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós graduação em zootecnia, f. 89, CDD 22. ED. 639.311. 2013.

GALO, J.M.; STREIT-JR, D.P.; SIROL, R.N. RIBEIRO, R. P.; DIGMAYER, M.; ANDRADE, V.X.L.; EBERT, A.R. Spermatic abnormalities of piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) after cryopreservation. *Brazilian Journal Biology*, v.71, p.1-7, 2011.

GANDRA, A. L. O Mercado de pescado da região metropolitana de Manaus. INFOPESCA, p. 84, 2010.

GOULDING, M.; CARVALHO M. L. Life history and management of the Tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): An important Amazonian food fish. *Revista Brasileira de Zoologia*, 1: 107-133. 1982.

GUNASEKERA, R. M.; SHIM, K. F.; LAM, T. J. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), *Aquaculture*, v. 146, p.245-259. 1996.

HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. Induced breeding in tropical fish culture. Ottawa: International Development Research Centre, 1993.

HERMAN, H.A.; MITCHELL, JR, DOAK, G.A. The artificial insemination and embryo transfer of dairy and beef cattle. Danville, IL: Interstate, 392p, 1994.

HOUSSAY, B. A. Acción sexual de la hipófisis en los peces y reptiles. *Rev Soc Arg. Biol.*, v.6, p.686-688, 1930.

IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2013.

IHERING, R.V. Die wirkung von Hypophyseinjektion auf den Laichakt von Fischen. *Zool Anz*, v.111, p.273-279, 1935,

LAHNSTEINER, F.; SOARES, F.; RIBEIRO, L. DINIZ, M.T. Egg quality determination in Teleost Fish. In: Cabrita, E.; Robles, V.; Herráez, P. *Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species*, CRC Pres, Taylor & Francis Group, Nova Iorque, 149-172, 2009.

MARIA, A. N. et al. Semen characterization and sperm structure of the Amazon tambaqui *Colossoma macropomun*. J. Appl. Ichthyology. 26, 779-783. 2010.

MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; SANTOS, J. P.; CARNEIRO, P. C. F. Hormonal induction and semen characteristics of tambaqui *Colossoma macropomum*. Zygote (Cambridge), v. 1, p. 1-5, 2010.

MENDONÇA, P.P.; FERREIRA, R.A.; JUNIOR, M.V.; VIDAL; ANDRADE, D.R.; SANTOS, M.V.D.; FERREIRA, A.V.; REZENDE, F.P. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Archivos de Zootecnia, 58, 323-331, 2009.

MENEZES, J. T. B.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; MENEZES, J. B., Jr. : Tambaquis provenientes de sêmen congelado já estão sendo produzidos na Amazônia (Tambaqui from freezing semen have been produced in Amazon). Rev. Pan. Aquic. 13, 65–67. 2003.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA – MPA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura - Brasil 2010. Brasília, 128p, 2012.

MUNIZ, J.A.S.M.; CASTANHO, M.T.J.A.; SANTOS, A.J.G. Influencia do fotoperíodo natural na reprodução induzida do tambaqui, *colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Pag. 205-211, 2008.

MURGAS, L. D. S.; FELIZARDO, O.; FERREIRA, M. R.; ANDRADE, ES.; VERAS, G. C. Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. Rev. Bras. Reprod. Anim.,v.35, p.186-191, 2011.

NAVARRO, R.D.; NAVARRO, F.K.S.P.; FILHO, J.T.S.; FILHO, O.P.R. Nutrição e alimentação de reprodutores de peixes. Revista Augustus. Ano 15, no 30. Pag.108-118, 2010.

NIKOLSKII, G.V. Theory of fish population dynamics as the biological background for rational exploitation and management of fishery resources. Edinburgh: Oliver & Boyd. 320p, 1969.

PAVLOV, D. A. A method for the assessment of sperm quality in fish. Journal of Ichthyology, v.46, N°5, pp. 391-398. 2006.

PEZZATO, L.E. Alimentos convencionais e não convencionais disponíveis para a indústria de nutrição de peixes no Brasil. Em: Simpósio internacional sobre nutrição de peixes e crustáceos. Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. Campinas. SP, 1995.

RAMIREZ, M.E.V.; LE PENNEC, M.; DORANGE, G.; DE VAUCHELLE, N.; NONNOTTE, G. Assessment of female gamete quality in the pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Invertebrate Reproduction and Development*, 36:1-3:73-78. 1999.

REIS, R. E.; KULLANDER, S, O.; FERRARIS, JR. Check list of the freshwater of South and Central America. Porto Alegre, EDIPUCRS, 729 pp. 2003.

ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, H.M. Desenvolvimento dos ovócitos de *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) e *Colossoma mitrei* (Berg, 1895) em condições de cultivo intensivo. *Ciência e Cultura*, v.40, p.60-63, 1988.

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

RURANGWA, E.; VOLCKAERT, F. A.; HUYSKENS, G.; KIME, D. E. "Quality Control of Refrigerated and Cryopreserved Semen Using Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA), Viable Staining and Standardized Fertilization in African Catfish (*Clarias gariepinus*)," *Theriogenology* 55 (3), 751–769,2001.

SALGUEIRO, C.C.M.; NUNES, J.F. Estudo de características testiculares e espermáticas de caprinos e ovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 23: 231-232. 1999.

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 espermatócrito. *R. Bras. Zootec*, v.40, n.6, p.1163-1167, 2011.

SANTOS, A. M.; GARCEZ, R. C. S. Monitoramento do desempenho reprodutivo do tambaqui cultivado em Presidente Médici (Rondônia). *Scientia Amazonia*, v. 4, n.3, 13-20, 2015.

SHIMODA E.; ANDRADE D. R.; VIDAL JÚNIOR M. V.; GODINHO H. P.; YASUI G. S. Determinação da razão ótima de espermatozóides por ovócitos de piabanha *Brycon insignis* (pisces - characidae). Arq Bras Med Vet Zootec, v.59, p.877-882, 2007.

SILVA, A.; CARNEIRO, S. E.; MELO, F.R. Desova induzida de tambaqui, *Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818, com de hipófise de curimatã comum, *Prochilodus cearensis* Steindachner. Coletânea de Trabalhos Técnicos. DNOCS. Fortaleza (CE), 1981.

SILVA, J. A.; DRUMOND, M. M.; MURGAS, L. D. S.; FELIZARDO, V. O. Dose inseminate utilizada na fertilização artificial de ovócito de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). Ver. Ceres, Viçosa, v. 57, n. 5, p. 648 – 652, set/out, 2010.

STREIT, Jr., D. P.; POVH, J. A.; FORNARI, D. C.; GALO, J. M.; GUERREIRO, L. R. J.; OLIVEIRA, D.; DIGMAYER, M.; GODOY, L. C. Recomendações técnicas para a reprodução do tambaqui. Embrapa Meio-Norte, Documento 212, p.30, 2012.

SUFRAMA. Potencialidades regionais estudo de viabilidade econômica. Piscicultura. Vol. 8, 2003.

TRIPPEL, E. A.; NEILSON, J. D. "Fertility and Sperm Quality of Virgin and Repeat-Spawning Atlantic Cod (*Gadus morhua*) and Associated Hatching Success," Can. J. Fish. Aquat. Sci. 49, 2118–2127,1992.

TRIPPEL, E.A. Estimation of male reproductive success of marine fishes, Journal Northwest Atlantic Fishes Science, v.33, p.81-113, 2003.

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

VILLACORTA-CORREA, M. A.; SAINT-PAUL, U. Structural indexes and sexual maturity of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Characidae) in Central Amazon, Brazil. Revista Brasileira de Biologia, 59(4): 637-652. 1999.

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

WOOTON, R.J. Ecology of teleost fishes. Chapman & Hall Co. Wales. 396p. 1995.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. Propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPQ, 1989. 225p.

ZANIBONI FILHO, E; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. *Rev. Bras. Reprod. Anim*, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.367-373, jul./set. 2007.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Caracterizar o desempenho reprodutivo de dois lotes de reprodutores de tambaqui (*Colossoma macropomum*) no Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura de Balbina.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Avaliar a qualidade dos gametas dos reprodutores dos lotes Cativeiro e Selvagem;
- Avaliar os parâmetros reprodutivos dos reprodutores dos lotes Cativeiro e Selvagem;
- Avaliar o efeito da qualidade dos gametas sobre a taxa de fertilização;
- Avaliar o efeito dos parâmetros físicos da água sobre a taxa e fertilização;

## **CAPÍTULO I**

### **AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE MATRIZES DE TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER 1818) DO CTTA DE BALBINA, AMAZONAS**

(Trabalho nas normas da Revista do Boletim do Instituto de Pesca)

1 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE MATRIZES DE TAMBAQUI  
2 *Colossoma macropomum* (CUVIER 1818) DO CTTPA BALBINA, AMAZONAS.

3 Paulo AMARAL JUNIOR<sup>1</sup>, José Fernando Marques BARCELLOS<sup>3</sup>, Nayana de Souza dos  
4 SANTOS<sup>4</sup>, Wallice Luiz Paxiúba DUNCAN<sup>2</sup>

5 <sup>1</sup>Pós Graduação - Ciências Pesqueiras nos Trópicos - CIPET, Universidade Federal do  
6 Amazonas. PPG. Ciências Pesqueiras nos Trópicos. Av. Coronel Rodrigo Octávio J. Ramos,  
7 N° 1200, Coroado I, Manaus/AM. CEP: 69067-005. E-mail: [pauloamaraljr@outlook.com](mailto:pauloamaraljr@outlook.com)  
8 (Autor correspondente).

9 <sup>2</sup>Laboratório de Histologia Funcional, Departamento de Morfologia, Universidade Federal  
10 do Amazonas - UFAM, Manaus/AM.

11 <sup>3</sup> Graduanda em Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Amazonas - UFAM,  
12 Manaus/AM.

13 <sup>4</sup>Laboratório de Morfologia Funcional, Departamento de Morfologia, Universidade Federal  
14 do Amazonas - UFAM, Manaus/AM

15 **Resumo**

16 Os parâmetros reprodutivos e a qualidade dos gametas são determinantes na eficiência  
17 reprodutiva. O objetivo foi analisar a qualidade dos gametas das matrizes de *Colossoma*  
18 *macropomum*, e verificar seus efeitos sobre os parâmetros reprodutivos e sua influência no  
19 desempenho da reprodução no CTTPAQ-Balbina, Presidente Figueiredo/AM. Foram  
20 estudados dois lotes: cativo e selvagem, sendo coletados 8 machos e 6 fêmeas, por lote. As  
21 coletas ocorreram no período de reprodução da espécie, outubro/2016 a janeiro/2017. Foram  
22 coletadas informações das variáveis da água, dos parâmetros reprodutivos e amostras de  
23 sêmen e oócito de cada matriz para análise das características. Não houve diferenças nas  
24 variáveis da água durante o período estudado, entre o peso das matrizes, morfometria dos  
25 oócitos, taxa de desova e de fertilização e nas variáveis de qualidade espermática exceto na  
26 concentração de espermatozoides e no número total de espermatozoides. Observou-se  
27 correlação entre a taxa de desova e o peso do peixe. Não houve correlação entre taxa de  
28 fertilização com qualidade espermática, desempenho reprodutivo das fêmeas e variáveis  
29 ambientais, exceto para a temperatura. Os lotes possuem diferença na concentração  
30 espermática e no número total de espermatozoides. O aumento da temperatura da água  
31 diminui a taxa de fertilização nos dois lotes.

32 **Palavras-Chave:** reprodução de peixe; sêmen; fertilização; temperatura.

### Abstract

33  
34 The reproductive parameters and the quality of the gametes are determinants of reproductive  
35 efficiency. The objective was to analyze the quality of the gametes of the *Colossoma*  
36 *macropomum* matrices, to verify effects on the reproductive parameters and their influence  
37 on the reproduction performance in the CTTPAQ-Balbina, Presidente Figueiredo / AM. Two  
38 lots were studied: captive and wild, 8 males and 6 females were collected, per batch. The  
39 collections occurred during the period of reproduction of the species, from October 2016 to  
40 January 2017. Data were collected from water variables, reproductive parameters and semen  
41 and oocyte samples from each matrix to analyze the characteristics. There were no differences  
42 in the water variables during the period, between the weight of matrices, oocyte  
43 morphometry, spawning rate and fertilization rate, and sperm quality variables, except sperm  
44 concentration and total sperm count. A correlation was observed between spawning rate and  
45 fish weight. There was no correlation between fertilization rate with sperm quality, female  
46 reproductive performance and environmental variables, except for temperature. The batches  
47 have a difference in sperm concentration and total number of spermatozoa. The increase in  
48 water temperature decreases the rate of fertilization.

49 **Key words:** fish reproduction; ;semen; fertilization; temperature.

### 50 INTRODUÇÃO

51 A piscicultura na Amazônia é uma atividade crescente, com maior importância  
52 socioeconômica para o aumento da produção de alimentos, o que indiretamente ajuda na  
53 conservação dos estoques naturais. Equivocadamente, os recursos pesqueiros parecem ser  
54 abundantes; além disso, a grande demanda pelo pescado contribui ainda mais com a  
55 diminuição dos estoques naturais devido ao aumento do esforço de pesca, tornando-se assim  
56 a piscicultura como a principal atividade produtiva no fornecimento de pescado demandado  
57 pela população (SUFRAMA, 2003; FAO, 2010).

58 No Estado do Amazonas o tambaqui é a principal espécie produzida pela piscicultura  
59 com 66%, matrinxã com 32% e o pirarucu com 2% (GANDRA, 2010). De acordo com o boletim  
60 estatístico do MPA (2012) a produção desse pescado, para o Estado, foi estimada em 12.000  
61 toneladas em 2010. Grande parte dessa produção é proveniente dos municípios da região  
62 metropolitana de Manaus (Manaus, Presidente Figueiredo, Rio Preto da Eva, Itacoatiara,  
63 Careiro da Várzea, Iranduba, Novo airão e Manacapuru) que possuem fácil acesso logístico  
64 pelas rodovias estaduais e federais. Somente esses municípios, de acordo com a estimativa da  
65 Sepror (2014), somam um total em área alagada de 2000 hectares.

66 A aquicultura avança em direção a profissionalização do seu potencial voltado para a  
67 industrialização. Esse avanço enfatiza a organização da produção em função do volume  
68 necessário para comercialização e exportação em grande escala. Isso faz com que a produção  
69 de alevinos aumente cada vez mais, tendo que obrigatoriamente aprimorar as tecnologias de  
70 produção e desenvolvimento reprodutivo (ANDRADE e YASUI, 2003).

71 Em consequência, a disponibilidade contínua de alevinos para subsidiar a produção  
72 desse pescado está ligada com a máxima utilização dos gametas com qualidade e disponíveis  
73 no mercado. Isso significa aumentar a fertilização ovocitária com a menor quantidade de  
74 espermatozoides durante o manejo reprodutivo (BILLARD *et al.* 1995).

75 É fundamental na aquicultura o controle da reprodução e para tal, um dos fatores  
76 limitantes para o bom desenvolvimento reprodutivo é a qualidade dos gametas. No ambiente  
77 natural ou de cultivo essa qualidade é influenciada por muitos fatores e alguns altamente  
78 variáveis como fatores nutricionais, ambientais (temperatura e fotoperíodo), dose hormonal  
79 para indução, estresses causados pelo manejo pré reprodutivo e reprodutivo, além de outros  
80 fatores como poluição, qualidade da água dos viveiros, parentesco das matrizes e procedência  
81 dos reprodutores podendo ser utilizados de cativeiro e/ou de ambiente natural (BOBE e  
82 LABBÉ, 2010; PEREGRINO JR *et al.* 2014).

83 Para a formação de plantéis de reprodutores recomendava-se a captura de animais da  
84 natureza de diferentes localidades para evitar consaguinidade ou parentesco, no entanto,  
85 inúmeros problemas e dúvidas dificultam essa estratégia em decorrência dos animais serem  
86 capturados em lugares distantes dos laboratórios como burocracia ambiental rigorosa para  
87 ações do tipo com animais silvestres, aparato logístico complexo no transporte, possibilidade  
88 de capturar animais velhos com herança genética não atrativa para o cultivo, introdução de  
89 doenças e difícil adaptação em cativeiro proporcionando negativas respostas zootécnicas na  
90 produção. Atualmente a formação de plateis a partir de animais existentes em cativeiro talvez  
91 seja a estratégia que proporciona maior segurança para a produção em escala comercial  
92 (STREIT JR. *et al.* 2012).

93 Sendo assim, a avaliação dos parâmetros reprodutivos que influenciam no  
94 desempenho da reprodução são de grande importância para a determinação da eficiência  
95 reprodutiva e do conhecimento da qualidade dos gametas. O sêmen é fundamental para o  
96 processo reprodutivo dos peixes, pois a contribuição do macho para a eficiência reprodutiva  
97 e da produção em cativeiro, é de grande importância. Fatores como a concentração  
98 espermática, e volume seminal são de grande valia para o bom desempenho reprodutivo  
99 (SALGUEIRO e NUNES, 1999). Já para as fêmeas as principais características que devem ser

100 observadas são: peso da desova, taxa de desova e tamanho dos ovócitos individuais (BOBE e  
101 LABBÉ, 2010).

102 Portanto, conhecer a qualidade dos gametas das matrizes de tambaqui (*Colossoma*  
103 *macropomum*) do Centro de Tecnologia, Treinamento e Produção em Aquicultura de Balbina  
104 (CTTPA), a principal Estação de Reprodução do Amazonas, e verificar seus efeitos sobre os  
105 parâmetros reprodutivos e sua influência sobre o desempenho da reprodução poderá  
106 contribuir e otimizar o uso dos recursos biológicos e de infraestrutura disponíveis para a  
107 produção de alevinos, além de contribuir com o desenvolvimento tecnológico, sustentável e  
108 econômico desta atividade produtiva como um todo.

## 109 MATERIAL E MÉTODOS

110 O estudo foi realizado no Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura  
111 de Balbina - CTTPA, localizado na Vila de Balbina (1°55'10,01" S; 59°27'54,67" O) no município  
112 de Presidente Figueiredo, Amazonas. Os peixes utilizados no estudo foram adensados em  
113 viveiros escavados com 2000 m<sup>2</sup> cada, os animais estavam distribuídos nos viveiros de acordo  
114 com a procedência do local de captura, chamado de "Lote". Os animais disponíveis na estação  
115 para realizar as reproduções foram provenientes de ambiente artificiais de pisciculturas,  
116 denominadas de "Cativeiro" e em ambientes naturais, denominadas de "Selvagem", esse  
117 animais possui idades respectivamente 18 e 8 anos.

118 Foram analisados dois lotes de matrizes de tambaqui: Lote Cativeiro - sendo avaliados 8  
119 machos e 6 fêmeas com peso médio  $6,63 \pm 1,061$  Kg e  $9,00 \pm 0,894$  Kg, respectivamente. Lote  
120 Selvagem - sendo avaliados 8 machos e 6 fêmeas com peso médio  $5,75 \pm 1,282$  Kg e  $8,33 \pm$   
121  $1,506$  Kg, respectivamente. As coletas ocorreram durante o período de reprodução da espécie  
122 entre outubro de 2016 a janeiro de 2017. O número de animais utilizados por reprodução  
123 variou entre duas e quatro fêmeas e quatro a seis machos por evento de reprodução variando  
124 conforme a programação de reprodução do CTTPA - Balbina. Todos os peixes utilizados no  
125 experimento foram selecionados para reprodução a partir dos sinais de maturação descritos  
126 por WOYNAROVICH e HORVÁTH (1983) como papila urogenital avermelhada e ventre  
127 abaulado, para os machos fácil liberação de sêmen através de leve pressão abdominal. Esses  
128 peixes foram alimentados com ração comercial de 28% de proteína bruta duas vezes ao dia e  
129 três vezes por semana. A quantidade de ração fornecida foi baseada na biomassa total dos  
130 peixes, calculada através da biometria realizada antes do período reprodutivo, a uma  
131 proporção de 1% da biomassa durante todo o período que antecede e durante a reprodução.  
132 Após a seleção nos viveiros os peixes foram mantidos em tanques de alvenaria com alta

133 renovação de água. O hormônio indutor utilizado foi o extrato hipofisário de carpa, aplicado  
134 em duas doses na proporção de 0,5 mg/Kg na primeira dose e após 12 horas a segunda dose  
135 a 5 mg/Kg do peso. Para os machos foi aplicada apenas uma dose de 1,5 mg/Kg do peso  
136 paralelamente a segunda dose da fêmea. Após a aplicação da segunda dose foram realizadas  
137 suturas da papila urogenital, esta prática utilizada no CTTPA para que não haja perdas de  
138 oócitos na fase de ovulação. Com a identificação dos sinais apresentados pelos peixes como  
139 natação pareada e agitada, foi iniciada a desova dos peixes. Os oócitos foram coletados em  
140 bacias plásticas limpas e secas, em seguida foram pesados em balança digital para então  
141 adicionar o sêmen diretamente sobre os oócitos. Após a fertilização os ovos passaram pelo  
142 processo de hidratação e assepsia com duas trocas sucessivas de água para lavagem e  
143 reposição do oxigênio na água consumido pelos ovos. Os ovos foram estocados em  
144 incubadoras de 200 L a uma densidade de 1 g/L..

145 Foram realizadas análises das variáveis físicas e químicas da água das incubadoras, como  
146 temperatura, oxigênio dissolvido e pH, que foram medidas durante toda a fase de fertilização  
147 através de medidor digital, oxímetro conjugado com termômetro marca:AZ, modelo:  
148 VZ8403AZ e fita de pH.

149 Foram coletadas amostras de sêmen e oócito de cada matriz para análise das características  
150 dos gametas seguindo o protocolo de avaliação proposto pelo Laboratório de Biotecnologia  
151 da Reprodução Animal - LABRA, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -  
152 EMBRAPA, unidade Tabuleiros Costeiros, Aracaju, Sergipe (cedido pelo Prof. Dr. Alexandre  
153 Nizio Maria- Coordenador do LABRA).

#### 154 Avaliação espermática

155 O volume de sêmen foi mensurado utilizando tubo Falcon no momento da liberação junto  
156 à papila urogenital a partir de pressão abdominal no sentido craniocaudal (LABRA, 2010). A  
157 taxa de espermição foi calculada através da relação entre o peso e o volume de sêmen  
158 (SHIMODA *et al.* 1997). Para a motilidade espermática foi utilizado um microscópio óptico  
159 com objetiva de 40 x, seguindo a escala arbitrária de 0 a 100%. Uma alíquota de 10 µL de sêmen  
160 foi colocada em uma lâmina e ativado com 100 µL de soro fisiológico 0,9% para observação ao  
161 microscópio (LABRA, 2010). O tempo de motilidade também foi mensurado, no momento da  
162 ativação, com soro fisiológico 0,9%, o cronômetro foi ligado até a paralisação total dos  
163 espermatozoides (RAMIREZ *et al.* 1999; MURGAS *et al.* 2011). Para a análise da concentração  
164 de espermatozoide, diluiu-se uma amostra de 1 µL de sêmen fresco em 999 µL de formol-  
165 citrato, proporção 1:1000. Após a diluição, a contagem dos espermatozóides foi realizada em

166 câmara de Neubauer (LABRA, 2010). A morfologia espermática foi avaliada pelo método com  
167 corante Rosa de Bengala a 3%. Onde 10 µL de sêmen fresco foi diluído em 990 µL de formol-  
168 citrato. Após a diluição foi preparado o esfregaço em lâmina de vidro para contagem de 100  
169 espermatozoides/extensão/animal em microscópio óptico com objetiva de 40 x. Sendo  
170 observado anormalidades consideradas primárias como: cauda quebrada, enrolada e  
171 degenerada, além das anormalidades secundárias como, cabeça solta, cauda dobrada e solta  
172 (LABRA, 2010). A viabilidade do sêmen foi observada utilizando corante eosina - nigrosina  
173 (5% eosina Y e 10% nigrosina). A contagem foi feita utilizando objetiva de 40 x (LABRA, 2010).

#### 174 Avaliação ovocitária

175 Para as fêmeas foram aferidos o diâmetro dos oócitos através de lupa com câmera digital  
176 acoplada (Leica EZ4D) com o auxílio do software de análise de imagens ImageJ  
177 ([www.imagej.nih.gov/ij](http://www.imagej.nih.gov/ij)). A taxa de desova de cada fêmea foi calculada utilizando a equação  
178 que relaciona o peso da desova pelo peso corporal:

$$179 \quad TD = \text{Peso da Desova} \times \frac{100}{\text{Peso Corporal da Fêmea}}$$

#### 180 Taxa de fertilização

181 Para avaliar o desempenho da reprodução, 6 horas após a fertilização dos oócitos, foi  
182 calculada a taxa de fertilização dos ovos de cada fêmea, fazendo a relação dos ovos  
183 fecundados e não fecundados (LAHNSTEINER *et al.* 2008), retirando 3 alíquotas de cada  
184 incubadora e colocando em uma placa de petri com três compartimentos, ao final da contagem  
185 foi calculada a média e obtendo a taxa de fertilização.

#### 186 Análises estatísticas

187 Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão. Os dados foram testados  
188 quanto à normalidade (teste Kolmogorov-Smirnov) e teste de homocedasticidade (teste de  
189 Levene). Os dados dos lotes selvagem e cativo foram comparados por meio do teste U,  
190 Mann-Whitney (não paramétrico). Na ausência de diferença estatística significativa entre os  
191 testes de comparação para duas amostras, os dados de cada variável dos dois lotes foram  
192 agrupados, log<sub>10</sub>-transformados, submetidos novamente ao teste de normalidade  
193 (Kolmogorov-Smirnov) e analisados quanto ao teste de t de Student para uma amostra. Na  
194 ausência de significância, os dados foram utilizados nas análises de correlação de Pearson  
195 e/ou regressão linear simples. Em todos os casos, o nível de significância aceito foi p < 0,05.

196 **RESULTADOS**

197 As variáveis físicas e químicas da água, tais como temperatura, O<sub>2</sub> dissolvido e pH das  
 198 incubadoras nos eventos reprodutivos de cada lote de matrizes (selvagem e cativoiro) não  
 199 foram estatisticamente diferentes durante todo o período de coleta. Os dados da concentração  
 200 de temperatura, oxigênio dissolvido e pH estão apresentados na tabela 1.

201 **Tabela 1.** Média ± desvio padrão das variáveis físicas e químicas da água mensuradas nas  
 202 incubadoras ao longo do período de coleta (out/2016 – jan/2017)

	<b>Cativoiro</b>	<b>Selvagem</b>
Temperatura (°C)	29 ± 1,09	31 ± 1,54
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	5,62 ± 0,11	5,575 ± 0,075
pH	5,25 ± 0,27	5,5 ± 0,0

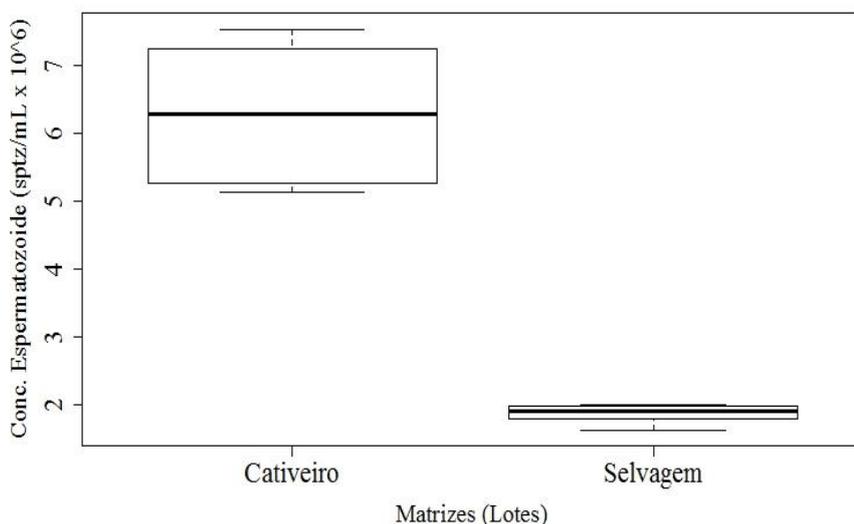
203 Não foi verificado diferença significativa entre os lotes de matrizes (cativoiro e  
 204 selvagem) avaliados ao longo das reproduções realizadas durante o período coletado para as  
 205 variáveis de peso das matrizes, volume de sêmen, taxa de esperma, motilidade, morfologia  
 206 do espermatozoide, duração da motilidade e viabilidade do sêmen (Tabela 2).

207 Os reprodutores utilizados de cada lote apresentaram estatisticamente o mesmo peso,  
 208 cativoiro 6,83 ± 0,98 e selvagem 5,5 ± 1,38, de certa forma os reprodutores do lote selvagem  
 209 apresentaram pesos menores em relação ao lote cativoiro. A proporção da dose de extrato  
 210 hipofisário de carpa (EHC) aplicada foi de 1,5 mg/Kg de peixe, no entanto o volume de  
 211 esperma extraído dos peixes de ambos os lotes mostrou-se variável dentro dos lotes assim  
 212 como entre os lotes.

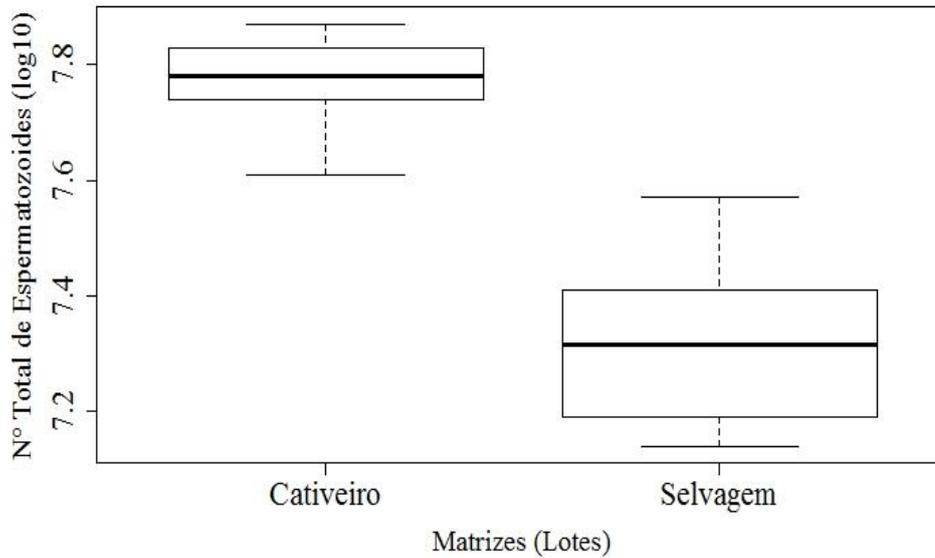
213 **Tabela 2.** Médias ± desvio padrão das variáveis da qualidade espermática dos lotes de  
 214 matrizes avaliados durante o período de coleta (out/2016-jan/2017) do Centro de  
 215 Treinamento, Tecnologia e Produção de Balbina, Amazonas.

	<b>Cativoiro</b>	<b>Selvagem</b>	<b>p = valor</b>
Peso (Kg)	6,83 ± 0,98	5,5 ± 1,38	0,085
Volume de Esperma (mL)	11,25 ± 4,66	11,96 ± 4,71	0,796
Taxa de Esperma (%)	0,001 ± 0,0005	0,0022 ± 0,0008	0,155
Motilidade (%)	88,5 ± 5,79	85 ± 13,04	0,567
Morfologia do Espermatozoide (%Normais)	63,8 ± 0,07	58,6 ± 0,06	0,229
Duração da Motilidade (s)	172,16 ± 46,08	152,16 ± 84,60	0,625
Viabilidade do Sêmen (%)	84,33 ± 3,93	86,83 ± 7,44	0,488

216 Quanto à concentração de espermatozoide foi verificada diferença entre os lotes de  
217 reprodutores cativoiro e selvagem, assim como no número total de espermatozoides ( $p < 0,05$ )  
218 (Gráficos 1 e 2).



219 **Gráfico 1.** Diferença da Concentração de espermatozoide entre os lotes Cativeiro e Selvagem  
220 de reprodutores de *Colossoma macropomum* ( $p = 0,001$ , teste U - Mann Whitney) do Centro de  
221 Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura de Balbina, Amazonas. (Boxplot  
222 representado por Limite superior, terceiro quartil, mediana, primeiro quartil e limite inferior  
223 respectivamente).  
224

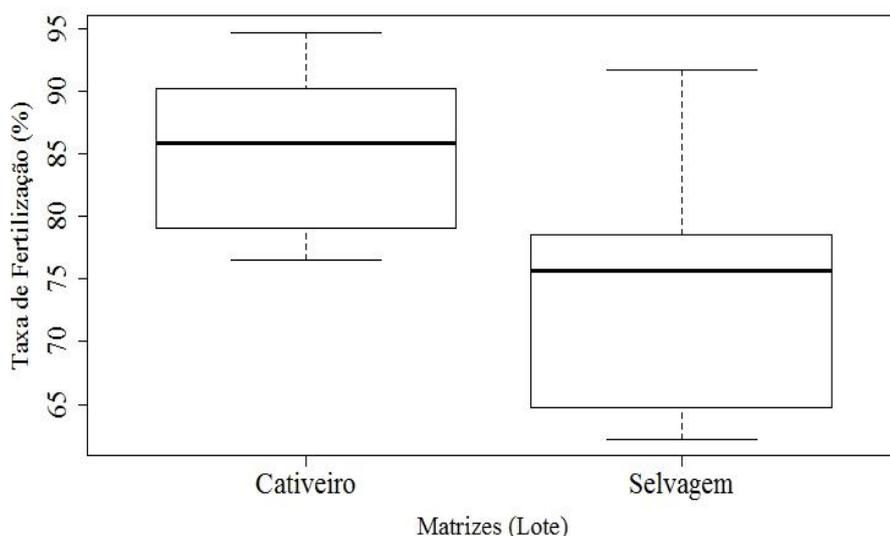


225

226 **Gráfico 2.** Diferença na Mediana do Número total de espermatozoides entre os lotes Cativeiro  
 227 e Selvagem de reprodutores de *Colossoma macropomum* ( $p < 0,001$ , teste U - Mann-Whitney)  
 228 do Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura de Balbina, Amazonas.  
 229 (Boxplot representado por Limite superior, terceiro quartil, mediana, primeiro quartil e limite  
 230 inferior respectivamente).

231

Na avaliação da taxa de fertilização dos planteis avaliados não se observou diferença  
 232 significativa dentro do período do estudo.



233  
 234 **Gráfico 3.** Mediana da Taxa de fertilização entre os lotes Cativoiro e Selvagem de reprodutores  
 235 de *Colossoma macropomum* ( $p = 0.073$ ) do Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção de  
 236 Balbina, Amazonas. (representado por limite superior, terceiro quartil, mediana, primeiro  
 237 quartil e limite inferior respectivamente).

238 Para o desempenho reprodutivo das fêmeas não foram encontradas diferenças  
 239 significativas entre os lotes para as variáveis de peso das fêmeas, peso da desova, taxa de  
 240 fertilização e morfometria dos oócitos (tabela 03).

241 Tabela 3. Médias  $\pm$  desvio padrão dos parâmetros de Desempenho reprodutivo das fêmeas de  
 242 *Colossoma macropomum* do Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção de Balbina,  
 243 Amazonas.

	<b>Cativoiro</b>	<b>Selvagem</b>	<b>p = valor</b>
Peso (Kg)	9,00 $\pm$ 0,89	7,75 $\pm$ 1,50	0,201
Peso da Desova (Kg)	0,79 $\pm$ 0,15	0,52 $\pm$ 0,41	0,174
Taxa de Desova (%)	9,07 $\pm$ 2,53	6,03 $\pm$ 4,84	0,213
Diâmetro dos Oócitos (mm)	1,03 $\pm$ 0,006	1,025 $\pm$ 0,022	0,62

244 Mesmo quando agrupados os dados dos dois lotes (selvagem e cativoiro), as variáveis  
 245 seminais não apresentaram correlações entre si, exceto a duração da motilidade e morfologia  
 246 (tabela 4).

247 Tabela 4. Correlação entre as variáveis espermáticas com os dados agrupados dos dois lotes:  
 248 selvagem e cativeiro de tambaqui, *Colossoma macropomum* do Centro de Treinamento,  
 249 Tecnologia e Produção de Balbina, Amazonas.

	r <sup>2</sup>	p
Volume de Esperma (mL) x Peso (Kg)	0,014	0,305
Duração da Motilidade (s) x Motilidade (%)	0,033	0,268
Concentração Espermática (sptz/mL) x Volume de Esperma (mL)	-0,079	0,671
Concentração Espermática (sptz/mL) x Peso (kg)	0,102	0,164
Motilidade (%) x Morfologia (%Normais)	-0,078	0,661
Duração da Motilidade (s) x Morfologia (%Normais)	0,485	0,007

250 De igual modo, quando as variáveis do desempenho reprodutivo das fêmeas foram  
 251 agrupadas (lotes selvagem e cativeiro), não se observou correlações entre tais parâmetros,  
 252 exceto a relação entre a taxa de desova e o peso do peixe (tabela 5).

253 Tabela 5. Correlação entre as variáveis do desempenho reprodutivo de fêmeas das matrizes  
 254 de *Colossoma macropomum* (dados agrupados dos lotes cativeiro e selvagem) do Centro de  
 255 Treinamento, Tecnologia e Produção de Balbina, Amazonas.

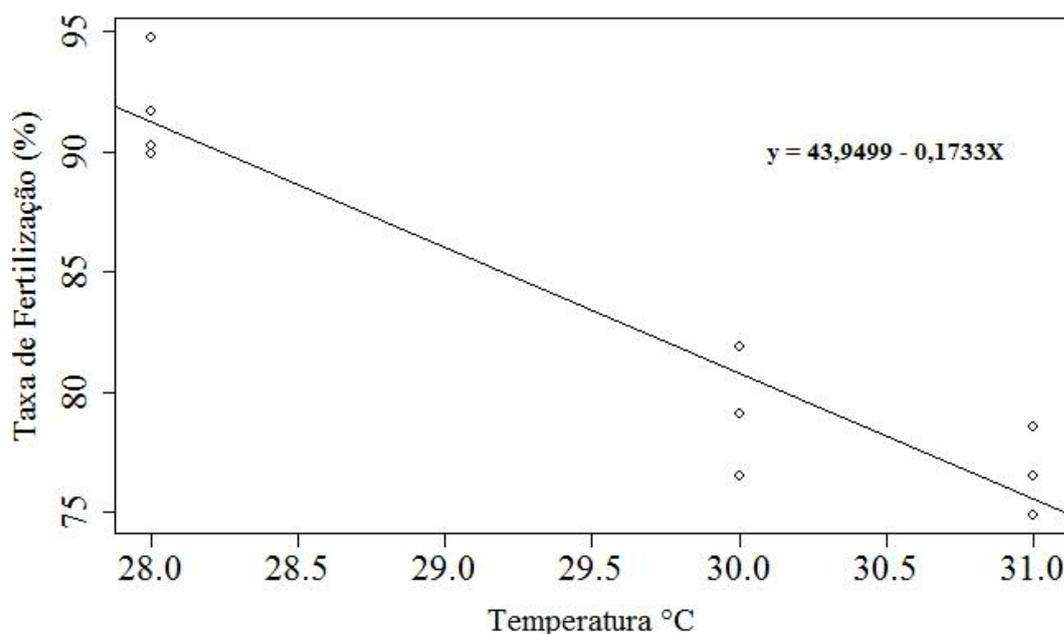
	r <sup>2</sup>	p
Diâmetro do Oócito (mm) x Peso (Kg)	-0,097	0,886
Diâmetro do Oócito (mm) x Peso da Desova (Kg)	0,022	0,289
Peso da Desova (kg) x Peso (Kg)	0,017	0,299
Taxa de Desova (%) x Peso (Kg)	0,448	0,029

256 A taxa de fertilização não estava correlacionada com as variáveis da qualidade  
 257 espermática, desempenho reprodutivo das fêmeas e variáveis ambientais (tabela 6) exceto  
 258 para a temperatura que apresentou correlação significativa (r<sup>2</sup>= -0,951; p < 0,001 ), o aumento  
 259 da temperatura da água influenciou negativamente na taxa de fertilização (gráfico 4).

260 Tabela 6. Valores de correlação entre a taxa de fertilização e variáveis da qualidade  
 261 espermática, desempenho reprodutivo das fêmeas e variáveis ambientais das incubadoras  
 262 durante a reprodução de tambaqui, *Colossoma macropomum* do Centro de Treinamento,  
 263 Tecnologia e Produção de Balbina, Amazonas.

	r <sup>2</sup>	p
<b>Macho</b>		
Peso ♂ (Kg)	-0,092	0,804

Volume de Esperma (mL)	-0,099	0,093
Taxa de Espermiação (%)	-0,096	0,858
Motilidade (%)	-0,022	0,403
Viabilidade (%)	-0,064	0,578
Duração da Motilidade (s)	0,142	0,123
Nº Total de Espermatozoides (sptz)	0,107	0,158
Morfologia (%normais)	0,081	0,189
<b>Fêmea</b>		
Peso ♀ (Kg)	-0,08	0,68
Peso da Desova (Kg)	-0,022	0,404
Taxa de Desova (%)	0,024	0,285
Diâmetro do oócito (mm)	-0,073	0,628
<b>Variáveis da Água</b>		
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	0,04	0,255
pH	0,16	0,108



265

266 Gráfico 4. Efeito da temperatura da água da incubadora sobre a taxa de fertilização do  
 267 *Colossoma macropomum* ( $r^2 = -0,951$ ,  $p < 0,001$ ) do Centro de Treinamento, Tecnologia e  
 268 Produção de Balbina, Amazonas.

## 269 DISCUSSÃO

270 Neste trabalho, os reprodutores de tambaqui (*Colossoma macropomum*) do Centro de  
 271 Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura de Balbina, Amazonas, foram induzidos  
 272 com dose de 1,5 mg/Kg de extrato de hipófise de carpa (EHC) e espermearam um volume  
 273 que apresentou grandes variações individuais porém essa diferença estatística não foi obtida.

274 *Avaliação espermática*

275 De acordo com resultados encontrados por VIVEIROS *et al.* (2010) utilizando machos  
276 de *Colossoma macropomum* com 6,0 Kg produziram 12,6 mL, e machos com 7,0 Kg atingiram  
277 volume de 10,2 mL de volume de esperma, aplicando doses de EHC de 0,25 mg/Kg na  
278 primeira dose e 2,5 mg/Kg na segunda dose. Em relação aos resultados encontrados neste  
279 trabalho foi possível observar que mesmo utilizando dose única de EHC de apenas 1,5 mg/Kg  
280 foram extraídos basicamente volumes semelhantes ao relatado por VIVEIROS *et al.* (2010).  
281 Pode-se observar que a dose de EHC aplicada tanto no lote selvagem quanto naquele de  
282 cativeiro de reprodutores do Centro de Treinamento, Tecnologia e Produção em Aquicultura  
283 de Balbina (Amazonas) induziu a uma produção semelhante de volume de esperma (11,9 e  
284 11,2 mL) entre os dois lotes de matrizes selvagem e cativeiro, respectivamente. Isso mostra  
285 que doses hormonais maiores não são necessárias para estimular uma maior produção de  
286 sêmen.

287 A motilidade espermática entre os dois lotes de matrizes (cativeiro e selvagem)  
288 também foi semelhante. Os valores médios foram 88 e 85%, respectivamente. Estes valores  
289 estão ligeiramente inferiores aos relatados para *C. macropomum* induzidos hormonalmente  
290 (96%), porém semelhantes àqueles obtidos de animais não induzidos (89,1%), conforme  
291 estudo realizado por MARIA *et al.* (2010a). Até então não está estipulado um valor mínimo de  
292 eficiência do sêmen para a motilidade das células para peixes, diferente do que já se conhece  
293 para sêmen de mamíferos que está em torno 30% (Colégio Brasileiro de Reprodução Animal  
294 - CBRA, 1998).

295 Nesse estudo, a proporção de espermatozóides normais nos dois lotes de matrizes  
296 estudados foi baixa (58,6 - 63,8 %) em relação aos resultados encontrados por MARIA *et al.*  
297 (2010b) quando avaliaram o sêmen de tambaqui. Segundo esses autores, observou-se uma  
298 maior porcentagem de espermatozoides normais 85,0%, enquanto aqueles com alguma  
299 anormalidade representavam apenas 15%. No entanto, verificou-se ao longo da estação  
300 reprodutiva que a proporção de espermatozoides sem anomalias está entre 30 e 45% (GALO,  
301 2013). Para não comprometer a taxa de fertilidade, o CBRA (1998) recomenda que a taxa de  
302 alterações morfológicas não deve ser superior a 30 % para o caso dos mamíferos. Em nosso  
303 estudo, estes valores estavam entre 36-41%. Por outro lado, os limites mínimos de alterações  
304 morfológicas ainda não foram definidos para os peixes. As alterações morfológicas dos  
305 espermatozóides são responsáveis pela redução da motilidade espermática (COSSON *et al.*  
306 1999). Observou-se que a proporção de espermatozóides normais/anormais de tambaqui do  
307 Centro de Tecnologia e Produção de Balbina influencia diretamente a duração da motilidade

308 do espermatozoide ( $r^2 = 0,49$ ;  $p < 0,05$ ). Isso faz sentido, uma vez que células com alguma  
309 anomalia pode prejudicar diretamente na capacidade locomotora da célula provocando a  
310 redução na taxa de fertilização (COSSON *et al.* 1999).

311 A duração da motilidade espermática de peixes de água doce é curta e muito variável  
312 entre as espécies (PERCHEC *et al.* 1995; COSSON *et al.* 1999). Logo, para o dourado (*Salminus*  
313 *maxillosus*) o tempo de motilidade encontrada por CÓSER *et al.* (1984) foi de 300 segundos e  
314 do curimbatá (*Prochilodus lineatus*) foi de 612 segundos. Para o curimatã (*Prochilodus nigricans*)  
315 a duração média foi de 52,8 segundos (ALVES, 2016). GALO (2013) verificou que em *C.*  
316 *macropomum* a motilidade teve duração de 41,4 segundos quando realizadas coletas  
317 quinzenalmente durante a estação reprodutiva em uma piscicultura comercial localizada em  
318 Pimenta Bueno – Rondônia. No estudo desses autores a temperatura média da água foi de  $28$   
319  $\pm 2$  °C. Neste trabalho, verificou-se que o tempo de motilidade foi de  $172,16 \pm 46,08$  segundos  
320 para o lote de reprodutores de cativeiro e  $152,16 \pm 84,60$  segundos para reprodutores do lote  
321 Selvagens. Ressalta-se que o uso dos reprodutores durante o período reprodutivo não  
322 ultrapassa duas induções consecutivas. Essa diferença de duração da motilidade pode estar  
323 relacionada com a frequência de extrusão dos reprodutores, o tipo de manejo empregado no  
324 tratamento dos animais, mas pode estar associado à morfologia dos espermatozoides, como  
325 relatado anteriormente.

326 A grande variação na concentração espermática em geral é apontada como sendo uma  
327 influência espécie específica nos peixes, para a mesma espécie pode haver grandes diferenças,  
328 esse fato pode ser observado entre os lotes analisados sendo que os reprodutores selvagens  
329 apresentaram menor número de células espermáticas por mL enquanto que os reprodutores  
330 do lote cativeiro alcançaram média de concentração maior. Essa diferença pode estar  
331 relacionada a muitos fatores como a dose de indução hormonal, manejo alimentar e  
332 reprodutivo no entanto esses fatores foram basicamente iguais para os dois lotes (cativeiro e  
333 selvagem) e essa diferença encontrada pode está relacionada a idade dos reprodutores, lote  
334 cativeiro com 18 anos e selvagem com 8 anos aproximadamente, segundo informações do  
335 CTTA-Balbina (TAITSON e GODINHO, 2003). A variação da concentração espermática é  
336 encontrada em outras espécies como *Rhandia quelen* com concentração mínima de  $1,97 \times 10^9$   
337 spz/mL e máxima de  $41,58 \times 10^9$  spz/mL e *Brycon amazonicus* com mínima de 7,6 e máxima  
338 de  $12,8 \times 10^9$  spz/mL (CIERESZKO e DABROWSKI, 1993; CRUZ-CASALLAS *et al.* 2004;  
339 BOMBARDELLI *et al.* 2006). Para o tambaqui obtiveram concentração de  $35 \times 10^9$  spz/mL  
340 encontrada por MENEZES *et al.* (2008),  $8,67 \times 10^9$  spz/mL Galo (2013),  $7,9 \times 10^9$  spz/mL  
341 MARIA *et al.* (2010a). A maior concentração encontrada por MENEZES *et al.* (2008) pode estar

342 relacionada com a proporção da dose de hormônio utilizada que foi de 1 mg/Kg de peixe.  
343 Segundo MARIA (2005) a concentração espermática não é uma variável específica da  
344 capacidade de fertilização do sêmen não podendo ser avaliada única e exclusivamente para a  
345 determinar a qualidade deste, exceto quando busca-se fertilizar com um volume fixo de sêmen  
346 uma quantidade fixa de oócitos.

347 Ao longo do período reprodutivo acompanhado, o método empregado na realização  
348 das reproduções foi de maneira geral o mesmo, assim como, o manejo alimentar. Logo, a taxa  
349 de fertilização alcançada ao longo do período apresentou-se de maneira muito variada para  
350 os lotes, com destaque ao lote selvagem que em relação ao lote cativo obteve mediana  
351 menor. Essa diferença na taxa de fertilização pode estar relacionada com os preparativos para  
352 a reprodução como no momento da seleção dos peixes para indução, nesses casos ocorrendo  
353 a mudança do selecionador, a escolha dos peixes pode ocorrer de forma equivocada,  
354 destacando que as características consideradas para seleção são subjetivas, ou seja, escolhendo  
355 um peixe induzido recentemente ou que ainda não tenha atingido a maturação necessária o  
356 processo reprodutivo estará comprometido. No entanto a utilização de mecanismos para  
357 identificação individual dos peixes, monitoramento e controle de informações passadas,  
358 correntes e futuras são imprescindíveis para que se possa tomar decisões estratégicas e  
359 operacionais de forma eficiente e produtiva (WOYNAROVICH e HÓVATH, 1989; MULLER,  
360 2003; GUERREIRO *et al.* 2014).

361 A taxa de viabilidade espermática está diretamente ligada à possibilidade do  
362 espermatozoide fecundar o óvulo. Neste estudo, a viabilidade espermática dos dois lotes de  
363 matrizes de tambaqui foi semelhante. Os valores (84 - 86%) são ligeiramente inferiores aos  
364 relatados por MARIA *et al.* (2010a).

#### 365 *Avaliação Ovocitária*

366 O peso das fêmeas entre os lotes analisados foram semelhantes. As outras  
367 características ovocitárias também foram semelhantes entre os dois lotes, tais como peso da  
368 desova, taxa de desova e morfometria dos oócitos, mostrando que independente da origem  
369 (cativo ou selvagem) o desempenho reprodutivo dessas matrizes são similares. A taxa de  
370 desova das fêmeas nos dois lotes foram superiores a 6 %, em que o peso médio da desova foi  
371 próximo de 800 g para fêmeas de quase 7 Kg. A produção de oócitos em relação ao peso vivo  
372 obtida por STREIT JR. *et al.* (2012) foi de 4,5 % com fêmeas de tambaqui pesando 6,5 Kg. Além  
373 disso, observou-se que fêmeas mais jovens de 36 a 48 meses apresentaram taxa de desova em  
374 torno de 12%, da mesma forma SANTOS e GARCEZ (2015) observaram o mesmo

375 comportamento da taxa de desova trabalhando com fêmeas de 16 Kg exibiram menor  
376 produção de oócitos 9 % em relação a fêmeas com 12,8 Kg que alcançaram 12,7 %. Em  
377 contraste com esses autores, o peso das fêmeas influenciou diretamente na taxa de desova ( $r^2$   
378 = 0,44;  $p < 0,05$ ). Isso sugere que fêmeas maiores apresentam maiores pesos de desova.

379 O diâmetro do oócito não é influenciado pelo peso das matrizes, tampouco pelo peso  
380 da desova. Os óocitos de tambaqui têm diâmetro médio de 1,0 mm. Segundo VAZZOLER  
381 (1996), o *Colossoma macropomum* sendo uma espécie migradora apresenta diâmetro do oócito  
382 menor que 1,5 mm. Da mesma forma VIEIRA *et al.* (1999) estudando essa espécie no Baixo  
383 Amazonas verificou diâmetro entre 0,85 mm a 1,25 mm. Oócitos maiores indicam maiores  
384 quantidades de reserva energética o que podem influenciar na sobrevivência das larvas.  
385 Avaliar o diâmetro dos oócitos pode prever as condições do estágio reprodutivo do peixe  
386 (BONISLAWSKA *et al.* 2001; FELIZARDO *et al.* 2012).

#### 387 *Taxa de fertilização*

388 Os testes de correlação realizados entre as variáveis da qualidade espermática com a  
389 taxa de fertilização mostraram relação negativa para as variáveis peso, volume de esperma,  
390 taxa de espermição, motilidade e viabilidade do sêmen, apesar da relação negativa as  
391 correlações não foram significativas. No entanto, foi possível observar baixa relação positiva  
392 com a duração da motilidade, nº total de espermatozoides e morfologia. LEITE *et al.* (2013)  
393 realizando estudo com tambaqui no Centro de Pesquisa em Aquicultura (CPAq), do  
394 Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) em Pentecostes, Ceará, alcançou  
395 alto grau de correlação ( $R^2=97,54$ ) testando diferentes proporções de espermatozoides/oócito  
396 entre a taxa de fertilização. Logo, a quantidade excessiva de espermatozoides no momento da  
397 fertilização pode causar diminuição da taxa de fertilização devido a poliespermia e/ou  
398 competição entre os espermatozoides. Diversos fatores, combinados ou independentes,  
399 influenciam a taxa de fertilização sejam eles ligados aos gametas como, diâmetro dos oócitos  
400 (LAHNSTEINER, 2000), duração da fertilização (SUQUE *et al.* 1995), tempo de duração da  
401 motilidade dos espermatozoides (BILLARD e COSSON, 1992), o tempo gasto na manipulação  
402 dos gametas (KAVAMOTO *et al.* 1999). Apesar dos baixos valores de correlação obtidos a  
403 partir dos dados coletados das variáveis ambientais neste trabalho, BART e DUNHAM (1994)  
404 observaram que baixas concentrações de oxigênio resultaram em menores taxas de  
405 fertilização. Ao longo do desenvolvimento da reprodução a temperatura determina a duração  
406 da maturação podendo ser longa ou curta, quando em temperatura baixa e alta  
407 respectivamente (TVEITEN e JOHNSEN, 1999). O aumento da temperatura, sendo o fator que

408 mais afeta o desenvolvimento de embriões e larvas, a aceleração do desenvolvimento  
409 embrionário pode provocar má formação causando a mortalidade (ABDEL *et al.* 2004). A  
410 temperatura da água de forma geral sempre pode causar algum tipo de influência para os  
411 processos de produção de peixes como, na diferenciação sexual, no crescimento, tempo de  
412 maturação dos gametas, na taxa de fertilização, eclosão e sobrevivência das larvas (LONGO  
413 *et al.* 2010; BORGES, 2004; ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). Sendo assim, observando o  
414 comportamento dos dados de temperatura da água das incubadoras medidas ao longo dos  
415 processos de reprodução e das taxas de fertilização alcançadas nas reproduções foi possível  
416 observar que as taxas de fertilização das reproduções realizadas com temperaturas da água  
417 em torno de 31 °C foram relativamente menores as realizadas com temperaturas próximas de  
418 28 °C, no entanto a correlação negativa obtida na relação entre a taxa de fertilização e a  
419 temperatura da água de incubação mostra que a temperatura está diretamente relacionada  
420 com a taxa de fertilização. A faixa ideal para o desenvolvimento satisfatório deve está em  
421 torno de 29 °C (ARAÚJO-LIMA e GOMES, 2005). No entanto, estudos realizados têm  
422 diminuído tais complexidades e otimizado os recursos aplicados na produção de alevinos,  
423 porém novos estudos devem ser realizados com o intuito de compreender melhor os fatores  
424 que influenciam a taxa de fertilização.

## 425 CONCLUSÃO

426 Os reprodutores do lote cativo e selvagem apresentam diferenças apenas na  
427 concentração de espermatozoides e no número total de espermatozoides.

428 A duração da motilidade , neste caso, foi influenciada pela morfologia do  
429 espermatozoide.

430 O desempenho reprodutivo das fêmeas entre os dois lotes (Cativeiro e Selvagem) são  
431 semelhantes.

432 A taxa de desova é dependente do peso da matriz.

433 O lote Cativeiro possui taxa de fertilização maiores quando comparado ao Lote  
434 Selvagem.

435 A concentração de oxigênio dissolvido e o pH da água das incubadoras não  
436 influenciou a taxa de fertilização.

437 O aumento da temperatura da água de incubação diminuiu significativamente a taxa de  
438 fertilização.

439 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 440 ABDEL, I.; ABELLÁN, E.; LÓPEZ-ALBORS, O. 2004 Abnormalities in the juvenile stage of sea  
441 bass (*Dicentrarchus labrax* L.) reared at different temperatures: types, prevalence and effect on  
442 growth. *Aquaculture International* 12:523-538.
- 443 ALVES, S. R. P. 2016 Caracterização e refrigeração de sêmen de *Prochilodus nigricans* da  
444 Baixada Maranhense. Dissertação de Mestrado – Curso de Mestrado em Recursos Aquáticos e  
445 Pesca, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, f.55. Disponível em  
446 [www.pppgrap.uema.br](http://www.pppgrap.uema.br), Acessado em 15/07/2017.
- 447 ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S. 2003 O manejo reprodutivo natural e artificial e sua  
448 importância na produção de peixes no Brasil. *Ver. Bras. Reprodu. Animal*, v.27, n.2, p.166-172.
- 449 ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; GOMES, L. C. 2005 Tambaqui (*Colossoma macropomum*) In:  
450 BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Eds). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa  
451 Maria: UFSM, p.67-104.
- 452 BART, A. N.; DUNHAM, R. A. 1996 Effects of sperm concentration and egg number on  
453 fertilization efficiency with channel catfish (*Ictalurus punctatus*) eggs and blue catfish (*I.*  
454 *furcatus*) spermatozoa. *Theriogenology* 45; 673-682.
- 455 BILLARD, R.; COSSON, J.; PERCHEC, G.; LINHART, O. 1995 Biology of sperm and artificial  
456 reproduction in carp. *Aquaculture* 129:95-112.
- 457 BILLARD, R.; COSSON, J.; PERCHEC, J.; LINHART, O. 1995 Biology of sperm and artificial  
458 reproduction in carp. *Aquaculture* 129, 95-112.
- 459 BILLARD, R.; COSSON, M. P. 1992 Some problems related to the assessment of sperm motility  
460 in freshwater fish. *J. Exp. Zool.*, v.261, p.22-31.
- 461 BOBE, J.; LABBÉ, C. 2010 Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative*  
462 *Endocrinology* 165, 535-548.
- 463 BOMBARDELLI, R. A.; MÖRSCHBÄCHER, E.F.; CAMPAGNOLO, R.; SANCHES, E.A.;  
464 SYPPERRECK, M.A. 2006 Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá  
465 cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimardm, 1824), *Rev. Bras. Zootecn.*, 5: 1251-1257.
- 466 BONISLAWSKA, M.; FORMICKI, K.; KORZELECKA-ORKISZ, A.; WINNICKI, A. 2001 Fish  
467 egg size variability: biological significance. *Electr J Pol Agric Univ Fish*, v.4, n.2, p.1-15.

468 BORGES, A. M. 2004 Efeito da temperatura da água na produção de populações monossexo  
469 de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem Chitralada. Dissertação, Faculdade de  
470 Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília.

471 CIERESZKO, A.; DABROWSKI, K. 1993 Estimation of sperm concentration of rainbow trout,  
472 whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique. *Aquaculture*, 109: 367-373.

473 CBRA, COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. 1998 Manual para exame  
474 andrológico e avaliação do sêmen animal. Belo Horizonte, 49 p.

475 CÓSER, A. M.; GODINHO, H. P.; Ribeiro, D. M. 1984 Cryogenic preservation of spermatozoa  
476 from *Prochilodus scrofa* and *Salminus maxillosus*. *Aquaculture*, 37: 387-390.

477 COSSON, J.; BILLARD, R.; CIBERT, C.; DREANNO, C.; SUQUET, M. 1999 Regulation of  
478 axonemal wave parameters of fish spermatozoa by ionic factors. In: GAGNON, C. In: The  
479 male gamete: from basic knowledge to clinical applications. Paris: Cache River. p. 161-186.

480 FAO. 2010 Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The State of World*  
481 *Fisheries and Aquaculture*. Fisheries and Aquaculture Department. Rome.

482 FAUVEL, C.; SUQUET, M.; COSSON, J. 2010 Evaluation of fish sperm quality. *J. Appl.*  
483 *Ichthyol.* 26, p. 636-643.

484 FELIZARDO, V. O.; MURGAS, L. D. S.; ANDRADE, E. S.; LÓPEZ, P. A.; FREITAS, R. T. F.;  
485 FERREIRA, M. R. 2012 Effect of timing of hormonal induction on reproductive activity in  
486 lambari (*Astyanax bimaculatus*). *Theriogenology*, v.77, p.1570- 1574.

487 GALO, J. M. 2013 Avaliação da qualidade dos gametas de tambaqui (*Colossoma macropomum*)  
488 ao longo da estação reprodutiva. Tese (doutorado em zootecnia) - Universidade Estadual de  
489 Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós graduação em zootecnia, f. 89, CDD  
490 22. ED. 639.311.

491 GANDRA, A. L. O. 2010 Mercado de pescado da região metropolitana de Manaus.  
492 INFOPECA, p. 84.

493 GUERREIRO, L.R.J.; STREIT JR., D.P.; ROTTA, M.A. 2014 Gerenciamento em unidade de  
494 produção de alevinos de peixes reofílicos: custos de produção e boas práticas de manejo.  
495 *Custos e Agronegócio on line* - v.10, n. 3 - Jul/Set, ISSN 1808-2882.

496 KAVAMOTO, E.T.; BARNABE, V.H.; CAMPOS, B.E.S; ANDRADE, E.F.T. 1999  
497 Anormalidades morfológicas nos espermatozoides do curimatá, *Prochilodus scrofa*  
498 (Steidachner, 1881) (osteichthyes, characiformes, prochilodontidae). *Bol. Inst. Pesca*, v.25, p.61-  
499 66.

500 LABRA. 2010 Protocolo para avaliação da concentração espermática em peixes. Laboratório  
501 de Biotecnologia da Reprodução Animal - LABRA, EMBRAPA.

502 LAHNSTEINER, F. 2000 Morphological, physiological and biochemical parameters  
503 characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs. *Fish Physiol. Biochem.* 23, 107-118.

504 LAHNSTEINER, F. 2008 The effect of internal and external cryoprotectants on zebrafish  
505 (*Danio rerio*) embryos. ***Theriogenology***, v.69, p.384-396.

506 LEITE, L. V.; MELO, M. A. P.; OLIVEIRA, F. C. E.; PINHEIRO, J. P. S.; CAMPELLO, C. C.;  
507 NUNES, J. F.; SALMITO-VANDERLEY, C. S. B. 2013 Deterioração da dose inseminante e  
508 embriogênese na fertilização artificial de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Arq. Bras. Med.*  
509 *Vet. Zootec.*, v.65, n.2, p.421-429.

510 LONGO, S. R.; PIRES, A. O. N. 2010 Temperatures for fertilization and hatching and their  
511 influence on determining the sex ratio of the silver catfish *Rhamdia quelen*. *Acta Scientiarum.*  
512 *Biological Sciences* 32:107-111.

513 MARIA, A. N. 2005 Diluidores e crioprotetores no resfriamento e congelamento do sêmen de  
514 piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Lavras.  
515 Lavras. 71pp.

516 MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; SANTOS, J. P.; SILVA, C. A.; CARNEIRO, C. F. 2010a Semen  
517 characterization and sperm structure the Amazon tambaqui *Colossoma macropomum*. *J. appl.*  
518 *Ichthyology*. 26, 779-783.

519 MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; SANTOS, J. P.; CARNEIRO, C. F. 2010b Hormonal  
520 induction and semen characteristics of tambaqui *Colossoma macropomum*. Cambridge University  
521 Press, Zygote: page 1-5.

522 MENEZES J.T.B., QUEIROZ L.J., DORIA C.R.C. & MENEZES JR J. B. 2008 Avaliação  
523 espermática pós-descongelamento em tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). *Acta*  
524 *Amazonica*, 38 (2) : 365-368.

- 525 MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA - MPA. 2012 Boletim estatístico da pesca e  
526 aquicultura - Brasil 2010. Brasília, 128p.
- 527 MULLER, C. J. 2003 Modelo de gestão integrando planejamento estratégico, sistema de  
528 avaliação de desempenho e gerenciamento de processos. 2003. 292 f. Tese (Doutorado) -  
529 Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção, Universidade Federal do Rio  
530 Grande do Sul, Porto Alegre.
- 531 MURGAS, L. D. S.; FELIZARDO, O.; FERREIRA, M. R.; ANDRADE, ES.; VERAS, G. C. 2011  
532 Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. Rev. Bras. Reprod.  
533 Anim.,v.35, p.186-191.
- 534 PERCHEC, G. C.; JEULIN, J.; COSSON, F.; BILLARD, R. 1995 Relationship between sperm  
535 ATP content and motility of carp spermatozoa. Journal of Cell Science **108**:747-753.
- 536 PEREGRINO JR., R. B.; HAMILTON, S.; DOMINGUES, E. C.; MAZELLA JR., J. C.; HAZIN, F.  
537 H. C.; CAVALLI, R. O. 2014 Desempenho reprodutivo do beijupirá (*Rachycentron canadum*)  
538 capturado no litoral de Pernambuco. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.66, n.3, p.681-687.
- 539 RAMIREZ, M.E.V.; LE PENNEC, M.; DORANGE, G.; DE VAUCHELLE, N.; NONNOTTE, G.  
540 1999 Assessment of female gamete quality in the pacific Oyster *Crassostrea gigas*. Invertebrate  
541 Reproduction and Development, 36:1-3:73-78.
- 542 RURANGWA, E.; KIME, D. E.; OLLEVIER, F.; NASH, J. P. 2004 The measurement of sperm  
543 motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture, Amsterdam, v. 234,  
544 n. 1, p. 1-28, Jan./Feb.
- 545 SALGUEIRO, C. C. M.; NUNES, J. F. 1999 Estudo de características testiculares e espermáticas  
546 de caprinos e ovinos. Rev. Bras. Reprod. Anim., 23: 231-232.
- 547 SANTOS, A. M.; GARCEZ, R. C. S. 2015 Monitoramento do desempenho reprodutivo do  
548 tambaqui cultivado em Presidente Medici (Rondônia). Scientia Amazonia, v. 4, n.3, 13-20.
- 549 SHIMODA, E.; ANDRADE, D. R.; VIDAL, M. V. J.; SILVA, J. F. S.; CARBALLO, O. W. F.;  
550 CRUZ, G. M. 1997 Influência da presença da fêmea sobre as características seminais do  
551 curimatá (*Prochilodus marginatus* Walbaum, 1972). Ver. Bras. ciênc. Vet., v.4, n.1, 39-42.
- 552 STREIT JR, D. P.; POVH, J. A.; FORNARI, D. C.; GALO, J. M.; GUERREIRO, L. R. J.;  
553 OLIVEIRA, D.; DIGMAYER, M.; GODOY, L. C. 2012 Recomendações técnicas para a

554 reprodução do tambaqui. Teresina: Embrapa Meio-Norte. 30p. Disponível em: (Documentos  
555 / Embrapa Meio-Norte, ISSN 0104-866X)

556 STREIT JR, D. P.; RIBEIRO, R. P.; MORAES, G. V.; MENDEZ, L. V.; GALLO, J. M.;  
557 DIGMAYER, M.; POVH, J. A. 2016 Características qualitativas do sêmen de Pacu (*Piaractus*  
558 *mesopotamicus*) após indução hormonal. Biosci. J., Uberlândia, v. 22, n. 3, p. 119-125, Sept./Dec.

559 STREIT JR., D. P.; POVH, J. A.; FORNARI, D. C.; GALO, J. M.; GUERREIRO, L. R. J.;  
560 OLIVEIRA, D.; DIGMAYER, M.; GODOY, L. C. 2012 Recomendações técnicas para a  
561 reprodução do tambaqui. Embrapa Meio-Norte, Documento 212, p.30.

562 SUFRAMA. 2003 Potencialidades regionais estudo de viabilidade econômica. Piscicultura.  
563 Vol. 8.

564 SUQUET, M.; BILLARD, R.; COSSON, J. C.; NORMANT, Y.; FAUVEL, C. 1995 Artificial  
565 insemination in turbot (*Scophthalmus maximus*): determination of the optimal sperm to egg  
566 ratio and time of gamete contact. *Aquaculture*, v.133, p.83-90.

567 TAITSON, P. F.; GODINHO, H. P. 2003 Evaluation of fish sperm concentration using two  
568 counting chambers. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoo.*, 55: 238- 239.

569 TVEITEN, H.; JOHNSEN, H. K. 1999 Temperature experienced during vitellogenesis  
570 influences ovarian maturation and the timing of ovulation in common wolffish. *Journal of*  
571 *Fish Biology* 55: 809 -819.

572 TVEITEN, H.; JOHNSEN, HK. 1999 Temperature experienced during vitellogenesis  
573 influences ovarian maturation and the timing of ovulation in common wolffish. *Journal of*  
574 *Fish Biology* 55: 809 -819.

575 VAZZOLER, A. E. A. M. 1996 Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática.  
576 Maringá, PR: EDUEM.

577 VIEIRA, E. F.; ISAAC, V. J.; FABRÉ, N. N. 1999 Biologia reprodutiva do tambaqui, *Colossoma*  
578 *macropomum* Cuvier, 1818 (TELEOSTEI, SERRALSAMIDAE), no Baixo Amazonas, Brasil. *Acta*  
579 *Amazonica* 29(4): 625 - 638.

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

- 584 VIVEIROS, A. T. M.; GODINHO, H. P. 2009 Sperm quality and cryopreservation of Brazilian  
585 freshwater fish species: a review. *Fish Physiol. Biochem.* 35, 137-150.
- 586 WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. 1983 A propagação artificial de peixes de águas  
587 tropicais: manual de extensão. Brasília: CNPq, 216 p.
- 588 ZANIBONI-FILHO E.; NUÑER, A. P. O. 2004 Fisiologia da reprodução e propagação artificial  
589 dos peixes. In: Cyrino JEP, Urbinati EC, Fracalossi DM, Castagnolli N. Tópicos especiais em  
590 piscicultura de água doce. São Paulo, SP: TecArt, p.45-73.