



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA – CAMPUS URUGUAIANA**

**CAMILLA DA SILVA TREIN**

**MOTILIDADE ESPERMÁTICA DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EM DIFERENTES  
TEMPERATURAS E FONTES DE ÁGUA**

**URUGUAIANA-RS  
2018**

**CAMILLA DA SILVA TREIN**

**MOTILIDADE ESPERMÁTICA DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EM DIFERENTES  
TEMPERATURAS E FONTES DE ÁGUA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Tecnólogo em Aquicultura.

Orientador: Giovani Taffarel Bergamin

Coorientador: Carlos Frederico Ceccon Lanes

**URUGUAIANA  
2018**

CAMILLA DA SILVA TREIN

**MOTILIDADE ESPERMÁTICA DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EM  
DIFERENTES TEMPERATURAS E FONTES DE ÁGUA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso Superior de  
Tecnologia em Aquicultura da  
Universidade Federal do Pampa, como  
requisito parcial para obtenção do Título  
de Tecnólogo em Aquicultura.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 14 de dezembro de 2018.

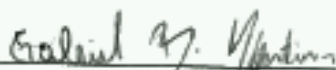
Banca examinadora:



Prof. Dr. Giovani Taffarel Bergamin  
Orientador  
UNIPAMPA



Prof. Dr. Carlos Frederico Ceccon Lanes  
UNIPAMPA



Prof. Dr. Gabriel Bernardes Martins  
UNIPAMPA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

T 787m Trein, Camilla da Silva  
MOTILIDADE ESPERMÁTICA DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EM  
DIFERENTES TEMPERATURAS E FONTES DE ÁGUA / Camilla da Silva  
Trein.  
34 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Universidade Federal do  
Pampa, AQUICULTURA, 2018.  
"Orientação: Giovani Taffarel Bergamin".

1. análise computadorizada. 2. reprodução. 3. sêmen. 4. água subterrânea. 5.  
água superficial. I. Título.

Dedico este trabalho à minha família, amigos, professores e a todos aqueles que me deram forças durante este trajeto.

## AGRADECIMENTO

Hoje, eu vivo uma realidade que parece um sonho, mas foi preciso muito esforço, determinação, paciência, perseverança, ousadia e maleabilidade para que eu chegasse até aqui, e nada disso eu conseguiria sozinha. Minha eterna gratidão a todos aqueles que colaboraram para que este sonho pudesse ser concretizado.

A esta universidade e a toda sua direção eu deixo uma palavra de agradecimento por todo ambiente inspirador e familiar onde nos sentíamos em casa, pelo carinho com os alunos, desde o pessoal da limpeza até a equipe diretiva, agradeço a oportunidade de poder concluir este curso.

Ao longo de todo meu percurso eu tive o privilégio de trabalhar de perto com os melhores professores, educadores, orientadores. Vocês foram minhas inspirações durante todo o meu percurso. Sem eles não seria possível estar aqui hoje de coração repleto de orgulho.

Tenho a honra de ter sido orientada pelo professor Giovani, o agradeço por se dedicar ao seu trabalho com tanto entusiasmo e verdade. Você faz os seus alunos se sentirem especiais e pessoas capazes de alcançar seus sonhos. As lições que aprendi com você ética, generosidade, amizade e humildade são atitudes e qualidades que se veem nas ações, e que ficam de exemplo e inspiração.

Meus queridos pais vocês se sacrificaram, se dedicaram, abdicaram de tempo e de muitos projetos pessoais para que eu tivesse a oportunidade de estudar e de ter uma boa formação profissional, mas também pessoal. Eu devo tudo que sou a vocês, e se sinto orgulho de mim e do lugar que cheguei, é porque sei que vocês vieram segurando a minha mão.

Meu namorado a você, que estive ao meu lado nas horas que chorei e nas horas que sorri, e nas horas que me lamentei tu soubeste me dar o conselho ideal na hora certa. Concluimos este sonho juntos.

Meus amigos, a vocês eu deixo uma palavra gigante de agradecimento. Hoje sou uma pessoa realizada e feliz porque não estive só nesta longa caminhada. Vocês foram meu apoio.

A quem não mencionei, mas estive junto eu prometo reconhecer essa proximidade, ajuda e incentivo todos os dias da minha vida.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

## RESUMO

Para uma fertilização eficiente, a qualidade do sêmen, além de outros fatores, como a água utilizada no processo de fertilização devem ser avaliados. Fatores físicos e químicos da água interferem na fertilização, uma vez que podem atuar sobre a viabilidade do sêmen. A avaliação espermática consiste em analisar características físicas do sêmen. O objetivo do trabalho foi avaliar a motilidade espermática de jundiás, com ativação do sêmen em água superficial e subterrânea em diferentes temperaturas, no final da estação reprodutiva. O experimento foi realizado no Centro de Tecnologia em Pesca e Aquicultura (CTPA) na Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)-Campus Uruguaiana. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, considerando cada peixe como um bloco. Os tratamentos foram distribuídos em esquema fatorial 2x4, avaliando duas águas (água de poço artesiano ou de barragem) e quatro temperaturas de ativação do sêmen (15, 20, 25 e 30°C). Foram utilizados quatro machos de jundiá, induzidos hormonalmente com gonadotrofina coriônica humana (HCG) na dosagem de 200 UI/Kg de peixe. Doze horas após indução, os animais foram capturados para que fosse feita a coleta de sêmen, e foi armazenado em tubos com solução inativante (glicose 5%) e mantidos em ambiente refrigerado. A cinética espermática foi avaliada a partir de uma gota de 10µL de sêmen diluído, com concentração de  $50 \times 10^6$  espermatozoides/mL, em equipamento semi-automatizado Sperm Class Analyzer (SCA). Foi avaliado um campo aleatório da lâmina, considerando-se espermatozoides móveis, rápidos, médios e lentos, além da velocidade progressiva, velocidade curvilínea e velocidade linear. O tempo de motilidade espermática foi determinado a partir da ativação da amostra, até que 50% das células perdessem a motilidade, não havendo diferença para o tempo total de motilidade nos diferentes tratamentos. A concentração espermática foi determinada pelo método de contagem de espermatozoides em câmara de Neubauer, onde a concentração espermática dos jundiás foi de  $1,27 \pm 0,25 \times 10^{10}$ . Foi encontrada diferença significativa apenas para tipo de água, sendo observado maior número de espermatozoides móveis e rápidos quando o sêmen foi ativado com água de barragem, em comparação à água de poço, independente da temperatura. Não foram observadas diferenças para tempo de motilidade espermática. Conclui-se que ao final da estação reprodutiva, a utilização de água superficial para a ativação do sêmen proporciona melhores índices de motilidade.

Palavras-chave: análise computadorizada, reprodução, sêmen, água subterrânea, água superficial.



## ABSTRACT

For efficient fertilization, the quality of the semen, in addition to other factors, such as the water used in the fertilization process, should be evaluated. Physical and chemical factors of water interfere with fertilization as they may act on the viability of the semen. The sperm evaluation consists of analyzing the physical characteristics of the semen. The objective of this work was to evaluate the sperm motility of jundiás, with activation of semen in superficial and subterranean water at different temperatures, at the end of the breeding season. The experiment was carried out at the Center for Technology in Fisheries and Aquaculture (CTPA) at the Federal University of Pampa (UNIPAMPA) - Campus Uruguaiiana. The experimental design was of randomized blocks, considering each fish as a block. The treatments were distributed in a 2x4 factorial scheme, evaluating two waters (artesian well or dam water) and four semen activation temperatures (15, 20, 25 and 30°C). Four males of jundiá, hormonally induced with human chorionic gonadotrophin (HCG), were used in the dosage of 200 IU / kg of fish. Twelve hours after induction, the animals were captured to collect semen, and stored in tubes with inactivating solution (glucose 5%) and kept in a refrigerated environment. Sperm kinetics were evaluated from a drop of 10µL of diluted semen, with a concentration of  $50 \times 10^6$  spermatozoa / mL, in semipermanent Sperm Class Analyzer (SCA). A random field of the slide was evaluated, considering mobile, fast, medium and slow spermatozoa, besides progressive velocity, curvilinear velocity and linear velocity. The sperm motility time was determined from the activation of the sample, until 50% of the cells lost their motility, and there was no difference in the total motile time in the different treatments. The sperm concentration was determined by the sperm counting method in the Neubauer chamber, where the sperm concentration of the jundias was  $1.27 \pm 0.25 \times 10^{10}$ . A significant difference was found only for water type, with a higher number of mobile and fast spermatozoa observed when the semen was activated with dam water compared to well water, independent of temperature. No differences were observed for sperm motility time. It is concluded that at the end of the reproductive season, the use of superficial water for semen activation provides better motility indexes.

Key words: computerized analysis, reproduction, semen, groundwater, surface water.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 – Jundiás ( <i>Rhamdia quelen</i> ) coletados para seleção ..... | 19 |
| Figura 2 – Indução hormonal.....  | 21 |
| Figura 3 – Identificação dos Reprodutores.....                            | 22 |
| Figura 4 – Coleta de sêmen .....  | 22 |
| Figura 5 – Visualização da lâmina após a captura da tela .....            | 23 |
| Figura 6 – Tempo de motilidade espermática (s). .....                     | 29 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 – Análise de água .....   | 20 |
| Tabela 2 – Motilidade espermática de jundiá em diferentes temperaturas e fontes de água..... | 25 |
| Tabela 3 – Médias agrupadas e efeitos dos fatores .....                                      | 26 |

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO.....  | 13 |
| 1.1 Produção Aquícola.....   | 13 |
| 1.2 Jundiá (Rhamdia quelen) .....  | 14 |
| 1.3 Fatores que afetam a Motilidade do Sêmen.....  | 15 |
| 1.4 Influência da qualidade do sêmen (motilidade espermática e morfologia de sêmen) sobre a eficiência reprodutiva ..... | 17 |
| 2 OBJETIVOS .....  | 18 |
| 2.1 Objetivo Geral: .....  | 18 |
| 2.2 Objetivos Específicos: .....   | 18 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS.....  | 19 |
| 3.1 Desenho Experimental .....   | 19 |
| 3.2 Qualidade da Água.....   | 20 |
| 3.3 Indução Hormonal e Coleta de Sêmen .....   | 21 |
| 3.4 Análise da Qualidade do Sêmen .....  | 23 |
| 3.5 Análises Estatísticas.....   | 24 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....   | 25 |
| 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....   | 31 |
| REFERÊNCIAS .....  | 32 |
| ANEXOS .....   | 38 |

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Produção Aquícola

A produção mundial de peixes atingiu em 2016, 171 milhões de toneladas, sendo 88% destinados ao consumo humano (FAO, 2018). Como resultado desta produção, em 2016, o consumo per capita registrado foi de 20,3 kg, mostrando que o setor da aquicultura é essencial na alimentação da população.

Com características naturais favoráveis, o Brasil tem todas as condições para se tornar uma grande potência na produção de pescado, com mais de 12% de água doce do planeta, uma costa marítima de aproximadamente 8,5 mil quilômetros, clima tropical e rica biodiversidade tanto no mar quanto nos rios. Além disso, o Brasil também se torna competitivo por apresentar produção significativa de grãos para fabricação de rações (ACEB, 2014).

A produção de pescado oriundo da aquicultura tem aumentado nas últimas décadas superando, inclusive, o crescimento de outros ramos do agronegócio. A produção nacional de pescado foi, por muitos anos, baseada na pesca extrativista. Porém, a má gestão na atividade, agregada à crescente demanda por produtos desta área, ocasionou colapsos nos principais recursos pesqueiros do mundo, gerando estagnação das capturas e oportunidade para a aquicultura suprir esta lacuna, oferecendo à sociedade produtos de qualidade e com certificação de origem (MPA, 2014).

A aquicultura vem se desenvolvendo em grande escala, produzindo importantes fontes proteicas para consumo do homem. Entre as produções exercidas no ramo da aquicultura, a que se destaca com maior valor para o mercado é a produção de peixes (piscicultura), além da criação de camarões (carcinicultura), dentre outros animais que não tem grande reconhecimento no mercado, porém também fazem parte das produções aquícolas (DIAS; MARIANO 2015).

Entre as espécies mais produzidas no ramo da aquicultura no Brasil, pode-se dividir por região a produção expressiva de algumas espécies que são: tambaqui, pirarucu e pirapitinga na região Norte; tilápia e camarão marinho no Nordeste; tambaqui, pacu e pintado no Centro-Oeste; tilápia, pacu e pintado no Sudeste; e carpa, tilápia, jundiá, ostra e mexilhão na região Sul (SCHULTER, 2017).

## 1.2 Jundiá (*Rhamdia quelen*)

O Brasil conta com 3 mil espécies nativas de peixes, com várias delas apresentando potencial para utilização dentro da piscicultura como tambaqui, pacu, matrinxã, pintado, pirarucu e jundiá. Este, por sua vez, apresenta características que vêm permitindo sua inclusão na lista de espécies de peixes criadas comercialmente no Brasil (MPA, 2014).

Segundo Narahara et al, (1988), dentre os grupos de espécies cultivadas no mundo, o dos Siluriformes apresenta destaque, devido à textura e sabor de sua carne a ausência de espinhas intramusculares e ao bom rendimento de carcaça.

O cultivo de jundiá (*Rhamdia quelen*) vem crescendo rapidamente, este animal pode ser encontrado desde o centro da Argentina até o sul do México. Produzido principalmente na região sul do Brasil, devido a sua rusticidade, do seu aparente potencial de crescimento no inverno, e de sua resistência a baixas temperaturas. Pode atingir em média 600 a 800 g de massa corporal em apenas 8 meses de cultivo em densidade de dois a quatro peixes por metro quadrado.

Segundo Gomes, (2000) o crescimento do Jundiá aumenta conforme a temperatura. Esse crescimento é bastante evidente em seus primeiros anos de vida. A taxa de crescimento dos machos é maior do que das fêmeas até o quarto mês, onde a situação inverte, pois estas passam a crescer mais rapidamente.

Seu hábito alimentar é onívoro com tendência à piscivoria. Os adultos se alimentam de peixes, crustáceos, insetos, restos vegetais e detritos orgânicos. São generalistas no que se diz respeito à escolha do alimento. Essa característica contribui para sua adaptação ao alimento artificial, e assim, para sua domesticação (MONTANHA, 2011).

A reprodução do jundiá apresenta um ritmo interno ocasionado por estímulos externos, principalmente pelo aumento da temperatura e fotoperíodo, devido à necessidade de enquadrar o período de reprodução com qualidade do meio ambiente para o desenvolvimento das larvas e alevinos. A maturidade sexual é atingida quando os machos com 13,4 cm iniciam o processo de maturação gonadal, enquanto que as fêmeas iniciam com 16,5cm, aproximadamente. As gônadas iniciam maturação à temperatura de 17°C e a desova ocorre em duas épocas do ano: primavera e verão (BORGES, 2005). Sua reprodução ocorre em águas com temperaturas na faixa de 22 a 25°C (TAVARES-DIAS et al., 2002).

Na natureza, os cardumes de jundiás desovam em locais com águas limpas, calmas e fundo pedregoso. Seus ovos não são aderentes e afundam e os reprodutores não apresentam cuidado parental.

### 1.3 Fatores que afetam a Motilidade do Sêmen

#### 1.3.1 Qualidade da água

Para uma fertilização eficiente, a qualidade do sêmen, além de outros fatores, como a água utilizada no processo de fertilização, é de vital importância. Fatores físicos e químicos da água interferem na fertilização, uma vez que podem atuar sobre a viabilidade do sêmen.

A qualidade da água utilizada na piscicultura é muito importante para o crescimento e desenvolvimento do animal. O controle da qualidade deve ser regrado, pois o rendimento da criação será melhor para todas as fases de vida dos peixes, incluindo o desempenho reprodutivo. Para isso são necessários níveis ideais de determinados parâmetros (BALDISSEROTTO, 2004).

Águas subterrâneas são águas originárias de minas e poços. O volume é superior ao das águas superficiais, sua vazão (água/tempo) menos afetada em períodos de estiagem, e não apresenta perdas por evaporação, como ocorre nas águas superficiais. Estas águas são naturalmente protegidas, porém não são imunes aos agentes de poluição e contaminação, normalmente águas subterrâneas dispensam, na maioria dos casos, tratamento físico-químico (MPA, 2007).

Estas águas em geral apresentam: baixas concentrações de oxigênio dissolvido e grandes níveis de gás carbônico, necessitando aeração ou exposição ao ar através de canais abertos antes de abastecer os sistemas de piscicultura. Águas proveniente de poços apresentam pH em torno de 5,5 a 8,5, podendo conter altos teores de ferro, que se oxidam ao entrar em contato com o ar, levando a elevados níveis de hidróxido de ferro. Estes níveis são perigosos para incubação, pois podem revestir a superfície dos ovos e atrapalhar as trocas de gases e metabólitos, causando a morte do embrião em desenvolvimento. Uma aeração forte, seguida por um período de decantação, ajuda na precipitação do hidróxido de ferro, melhorando a qualidade destas águas para o uso em incubadoras (KUBITZA, 1998).

A qualidade da água subterrânea é tão importante quanto o aspecto quantitativo da mesma. A estimativa dos sólidos totais dissolvidos (STD), obtida através da condutividade elétrica pode-se ter um resultado estimado sobre a potabilidade da água. Quando a estimativa for igual ou maior 1000 mg/L, as águas são salobras ou podem estar contaminadas (MARION et al., 2007).

A água subterrânea com pH abaixo de 7 pode conter sais que neutralizam ácidos e possuir alcalinidade mensurável. Os íons carbonato e bicarbonato colaboram para a alcalinidade

da água, já os íons de cloreto, sulfato e nitrato não. A temperatura das águas subterrâneas está diretamente relacionada com o local onde a mesma se encontra, não tendo grandes variações por função de não ter contato direto com a radiação solar, chegando até ela apenas o calor captado pelo solo que a antecede (FENZEL 1986).

Segundo Kubitzka (1998) águas superficiais são aquelas águas que se acumulam na superfície e quando escoadas formam rios, riachos, lagos, lagoas, pântanos, açudes, córregos, barragens entre outros. As águas superficiais por não penetrarem ao solo acabam formando as principais fontes de abastecimento de água potável do planeta. Embora tenham toda essa importância para a vida do planeta, as águas superficiais doces representam apenas 0,14% de toda a água existente na terra. Estas águas tendem a se tornar vulneráveis pela sua exposição a impurezas.

São fontes de água muito usadas na produção aquícola. Estas águas normalmente apresentam concentrações de oxigênio e gás carbônico próximas à saturação, sendo adequadas para a vida dos animais aquáticos. A temperatura das águas superficiais se estabelece através da hora do dia e da época do ano, podendo reduzir o cultivo de alguns animais em certas estações. Essas águas podem também trazer peixes e outros organismos indesejáveis ao sistema de cultivo, sendo necessária a proteção das linhas de abastecimento. O pH das águas superficiais é estabelecido entre 6,5 e 8,5 (KUBITZA, 1998).

### 1.3.2 Variações Climáticas

O conhecimento sobre o desempenho reprodutivo das espécies ao longo do período reprodutivo é escasso, comprovando a necessidade obtenção dessas informações. Deve-se considerar, para o sucesso do desempenho reprodutivo das espécies, que as mudanças climáticas estão ficando mais evidentes e as estações do ano estão perdendo suas características marcantes, devido às ações descontroladas do homem sobre a natureza como, por exemplo, a intensificação do efeito estufa, o desmatamento e a destruição da camada de ozônio (WALTER et al., 2002).

As mudanças climatológicas podem resultar no adiantamento ou no retardamento da maturação final e ou liberação dos gametas desses peixes em diferentes períodos da reprodução.

As características no comportamento reprodutivo dos peixes estão relacionadas com a probabilidade de aumentar a sobrevivência das larvas. Sendo assim, a desova deve ocorrer em épocas onde há maior disponibilidade de alimentos e de proteção da prole contra os predadores. Os maiores períodos de luminosidade estão relacionados com a primavera e o verão, onde



ocorrem os maiores índices pluviométricos e de temperatura (ZANIBONI FILHO; WEINGARTNER 2007).

Os fatores abióticos, determinados pelos ritmos circadianos, vão interferir diretamente na reprodução. Sendo assim é possível afirmar que certas mudanças ambientais podem agir no hipotálamo, responsável pela liberação de GnRH e dopamina. Os neurônios hipotalâmicos penetram a adeno-hipófise, responsável pela síntese e secreção dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH), os quais controlam o desenvolvimento e a maturação gonadal (CHANG et al., 2000).

#### 1.4 Influência da qualidade do sêmen (motilidade espermática e morfologia de sêmen) sobre a eficiência reprodutiva

Entre as espécies de peixes existem variedades entre as características seminais, sua avaliação é importante para estabelecer reproduções bem-sucedidas. A avaliação espermática consiste em analisar características físicas do sêmen (volume, motilidade, vigor e concentração). O conhecimento sobre estes valores são necessários para que seja possível a avaliação da qualidade do sêmen coletado, e com isso, aperfeiçoar os processos reprodutivos (ROUTRAY et al., 2007).

Os espermatozoides são morfologicamente subdivididos em cabeça, peça intermediária e cauda. Nos espermatozoides de peixes, observa-se a falta do acrossomo. Em outros animais, como os mamíferos, o acrossomo tem como função o rompimento da zona pelúcida, eles dependem do rompimento da membrana para que aconteça a fecundação, sendo assim, conseguem o rompimento da membrana liberando suas enzimas digestivas. A carência do acrossomo nos peixes é compensada pela presença da micrópila, um orifício no córion do ovo, que auxilia na penetração dos espermatozoides (COSSON et al., 1999).

Os espermatozoides não apresentam motilidade quando estão dentro do testículo do animal. O sêmen dos peixes só terá sua motilidade espermática ativada quando em contato com a água, sendo assim a fertilização dos ovócitos ocorrerá após a ativação da motilidade. Assim que o sêmen entrar em contato com a água sua ativação será irreversível, e sua motilidade tem duração curta de tempo, após este tempo o espermatozoide ficará incapaz de fertilizar o ovócito. (MARQUES, 2001).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral:

Analisar o efeito da temperatura e fontes de água sobre a motilidade espermática do jundiá (*Rhamdia quelen*) no fim da estação reprodutiva

### 2.2 Objetivos Específicos:

- Avaliar a motilidade espermática de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos a diferentes fontes de água (poço e barragem) durante a ativação dos espermatozoides.
- Avaliar o efeito da temperatura (15,20,25 e 30°C) sobre a motilidade do sêmen dos animais.
- Gerar relatórios detalhados e precisos de motilidade espermática de jundiá utilizando análise computadorizada pelo aparelho Sperm Class Analyzer, utilizando o software CASA.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Desenho Experimental

Este experimento foi realizado no Centro de Tecnologia em Pesca e Aquicultura (CTPA) na Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Campus Uruguaiana, em maio de 2018, no final do segundo pico reprodutivo da espécie, onde foram avaliados os índices de motilidade espermática dos animais, com diferentes parâmetros de qualidade da água e diferentes temperaturas.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, considerando cada peixe como um bloco. Os tratamentos foram distribuídos em esquema fatorial 2x4, avaliando duas águas (água de poço artesiano ou de barragem) e quatro temperaturas de ativação do sêmen (15, 20, 25 e 30°C).

Os animais eram provenientes do plantel de reprodutores do CTPA, mantidos em viveiros de alvenaria. Os mesmos foram alimentados com ração extrusada para engorda de peixes com 6 a 8 mm e 28% de proteína bruta nos seis meses anteriores ao experimento. Para que fosse executado o experimento estes animais foram coletados através de rede de arrasto. Após foram levados para tanques de alvenaria, dentro do laboratório (Figura1), para que fossem selecionados, a partir da sua liberação de sêmen.

**Figura 1.** Jundiás coletados para seleção.



**Fonte:** Próprio autor.

### 3.2 Qualidade da Água

As análises de água foram executadas no Laboratório de Qualidade da Água do Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura na UNIPAMPA, as águas das análises foram provenientes do CTPA, onde a água de poço foi coletada da torneira do setor e a água de barragem foi coletada diretamente na tubulação de saída do viveiro onde se encontravam os animais.

Foram analisados os parâmetros de condutividade elétrica, leitura no aparelho condutivímetro, turbidez no turbidímetro, pH no phmetro, dureza e alcalinidade foram determinados através de metodologias específicas (tabela 1). Os valores de alcalinidade foram determinados a partir do método volumétrico feito por titulação com solução padronizada (BOYD, 1992), a metodologia se encontra em (Anexo A). A análise de dureza foi determinada, pelo método de (ADAD, 1982) (Anexo B).

**Tabela 1.** Parâmetros de qualidade das fontes de água utilizadas.

| Parâmetro            | Poço                           | Barragem                      |
|----------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| <b>Condutividade</b> | 660,45 $\mu\text{S}/\text{cm}$ | 62,74 $\mu\text{S}/\text{cm}$ |
| <b>Turbidez</b>      | 0,29 NTU                       | 2,71 NTU                      |
| <b>Ph</b>            | 7,62                           | 6,92                          |
| <b>Dureza</b>        | 112 mg/L                       | 32 mg/L                       |
| <b>Alcalinidade</b>  | 192,75 mg/L                    | 22 mg/L                       |
| <b>Osmolaridade</b>  | 19 mos                         | 5 mos                         |

Foram testados oito tratamentos com água de poço artesiano e água superficial (barragem), em diferentes temperaturas (15, 20, 25 e 30°C), sendo denominados de P15, P20, P25 e P30 para os tratamentos com água de poço e B15, B20, B25, B30 para tratamentos com água de barragem.

### 3.3 Indução Hormonal e Coleta de Sêmen

Foram utilizados 4 machos de jundiá. Os animais passaram por indução com tratamento hormonal utilizando-se gonadotrofina coriônica humana (HCG), a dosagem utilizada foi de 200 UI/Kg, sendo aplicada na base da nadadeira peitoral (figura 2).

**Figura 2.** Indução hormonal.



**Fonte:** Próprio autor.

Doze horas após indução, os animais foram capturados para que fosse feita a coleta de sêmen. Em seguida os animais já avaliados eram identificados com chip e colocados novamente nos viveiros, para que houvesse o controle dos reprodutores utilizados no presente trabalho (Figura 3) Os reprodutores foram contidos e secos com pano e papel toalha. Em seguida, foi aplicada individualmente massagem na região ventral do animal sempre no sentido encéfalo-caudal (Figura 4). A primeira gota de sêmen foi desprezada para evitar possível contaminação e o restante foi coletado a partir de uma seringa. O sêmen coletado foi armazenado em tubos falcon e mantido sob-refrigeração até o momento da análise.

**Figura 3.** Identificação dos reprodutores



Fonte: Próprio Autor

**Figura 4.** Coleta de sêmen



Fonte: cac-php.unioeste.br

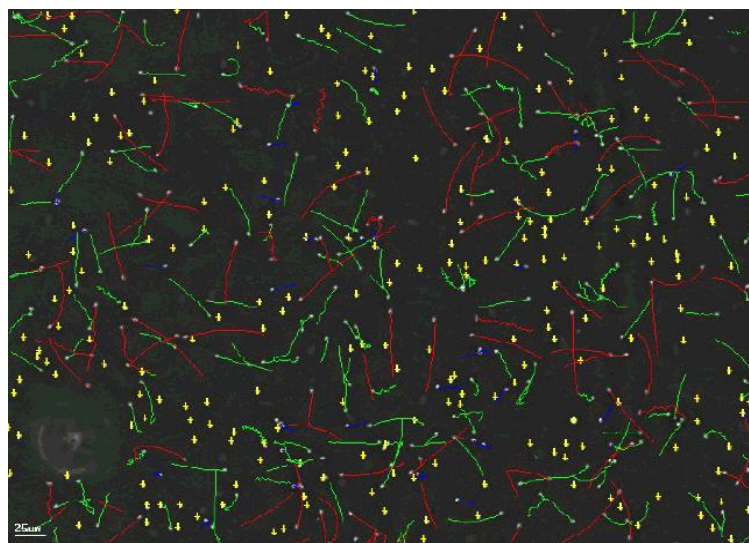


### 3.4 Análise da Qualidade do Sêmen

A segunda etapa do experimento foi executada no BIOTECH – Laboratório de Biotecnologia da Reprodução da UNIPAMPA, campus Uruguaiana. Para a análise de motilidade a amostra de sêmen passou por uma diluição de  $1\mu\text{L}$  para  $100\mu\text{L}$  de solução inativante, solução de glicose. A cinética espermática foi avaliada com a amostra do sêmen diluído,  $1\mu\text{L}$  na lâmina e  $4\mu\text{L}$  de solução ativante (água), em concentração de  $50 \times 10^6$  espermatozoides/mL. Foi utilizado equipamento semi-automatizado Sperm Class Analyzer (SCA, software Version 5.1; Microptic, Barcelona, Spain) adaptado à espécie por (SANCHES et al., 2010). Foi avaliado um campo aleatoriamente da lâmina, considerando-se os parâmetros motilidade total, motilidade progressiva, velocidade do trajeto, velocidade progressiva, velocidade curvilínea, amplitude de deslocamento lateral de cabeça, frequência de batimentos do flagelo, retilinearidade e linearidade (figura 5).

A duração da motilidade foi feita concomitantemente a ativação dos espermatozoides, assim que a amostra era ativada iniciava-se a contagem do tempo através de um cronômetro. A determinação da taxa de células móveis seguiu a escala de 0 a 100%, quando 50% das células perdiam a motilidade foi parado o cronômetro e determinado o tempo de motilidade.

**Figura 5.** Visualização da lâmina após a captura da tela, mostrando a velocidade dos espermatozoides rápidos, médios e lentos.



**Fonte:** Imagem retirada do relatório gerado pelo programa Sperm Class Analyzer.

A mensuração da concentração espermática do sêmen foi realizada de forma individual a partir do sêmen proveniente de cada um dos reprodutores, foi utilizado o método de contagem de espermatozoides em câmara hematómica de Neubauer com diluição de 5  $\mu\text{L}$  de sêmen, diluída em 5.000  $\mu\text{L}$  de formol salina tamponado, resultando na diluição de 1:1000. Após a diluição, realizou-se a contagem de células espermáticas presentes em dez campos da câmara de Neubauer (STREIT JR, 2004a).

### 3.5 Análise Estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância de duas vias (efeito da temperatura, efeito da fonte de água e interação), em nível de 5% de significância. As médias, quando significativamente diferentes, foram comparadas pelo teste t (fontes de água) ou teste de Tukey (temperaturas), também em 5% de significância ( $P < 0,05$ ).



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração espermática é geralmente usada para caracterização do sêmen (BILLARD et al., 1995). Este é um aspecto importante nos processos relacionadas à fertilização artificial de peixes para otimização do espermatozoide nos procedimentos de fertilização artificial (BOMBARDELLI et al., 2006; CHEREGUINI et al., 1999; SANCHES et al., 2009). A concentração espermática dos jundiás foi de  $1,27 \pm 0,25 \times 10^{10}$ , semelhante aos valores encontrados por outros autores, como Sanches et al. (2011), que observaram concentração de  $1,79 \times 10^{10} \cdot \text{mL}^{-1}$  e Bombardelli et al. (2006), com  $1,97 \times 10^{10} \cdot \text{mL}^{-1}$ . Valores superiores foram verificados em outros trabalhos: 5,0 a  $6,6 \times 10^{10} \cdot \text{mL}^{-1}$  (SANCHES et al., 2013);  $4,5 \times 10^{10} \cdot \text{mL}^{-1}$  (SANCHES et al., 2010) e 3,17 a  $3,96 \times 10^{10} \cdot \text{mL}^{-1}$  (TESSARO et al., 2012).

Segundo Godinho (2007), diferenças de concentração espermática são comumente encontradas em peixes teleósteos, podendo variar de acordo com a aplicação ou não de hormônio, tipo de hormônio utilizado, época da coleta de sêmen, idade e tamanho dos animais e coletas sucessivas (BORGES et al., 2005; STREIT JR. et al., 2004b).

A qualidade do sêmen é definida como a capacidade do espermatozoide de fertilizar o ovócito eficientemente. Rurangwa et al. (2004) relataram correlação positiva entre a motilidade espermática e a velocidade curvilínea, velocidade média de deslocamento e velocidade em linha reta, indicando que quanto maior a motilidade e velocidade espermática, maior será a taxa de fertilização. As médias detalhadas de motilidade obtidas no presente estudo podem ser observadas na Tabela 2.

**Tabela 2.** Motilidade espermática de jundiá em diferentes temperaturas e fontes de água.

| Variável                     | Temperatura (°C) |            |             |             |
|------------------------------|------------------|------------|-------------|-------------|
|                              | 15               | 20         | 25          | 30          |
| <b>BARRAGEM</b>              |                  |            |             |             |
| Progressivos (%)             | 54,28±8,52       | 55,67±5,96 | 50,27±11,67 | 51,23±9,33  |
| Móveis (%)                   | 72,06±5,90       | 66,91±4,48 | 61,34±9,65  | 66,94±10,59 |
| Rápidos (%)                  | 25,90±7,68       | 23,38±3,21 | 20,34±7,56  | 21,06±4,84  |
| Médios (%)                   | 39,81±6,41       | 38,31±3,25 | 35,35±5,60  | 39,65±6,21  |
| Lentos (%)                   | 6,36±2,02        | 5,23±1,31  | 5,65±0,93   | 6,23±1,47   |
| Velocidade curvilínea (mm/s) | 86,75±6,99       | 87,59±3,41 | 83,61±5,99  | 84,75±3,18  |
| Velocidade linear (mm/s)     | 69,28±9,65       | 71,34±4,90 | 70,36±7,85  | 66,06±2,98  |

| POÇO                          |            |            |             |             |
|-------------------------------|------------|------------|-------------|-------------|
| Progressivos (%)              | 47,80±4,55 | 47,06±6,58 | 51,06±10,70 | 39,97±8,41  |
| Móveis (%)                    | 63,63±2,36 | 58,11±5,02 | 58,26±8,45  | 52,67±10,14 |
| Rápidos (%)                   | 16,70±2,30 | 12,54±4,64 | 16,60±5,93  | 17,92±6,62  |
| Médios (%)                    | 40,52±1,15 | 39,11±2,55 | 37,85±7,30  | 28,84±3,46  |
| Lentos (%)                    | 6,42±0,70  | 6,46±1,44  | 3,81±1,34   | 5,90±1,84   |
| Velocidade curvilinear (mm/s) | 82,47±1,36 | 76,76±5,69 | 84,36±5,11  | 83,62±4,89  |
| Velocidade linear (mm/s)      | 65,96±4,02 | 66,38±6,36 | 73,24±7,21  | 66,22±4,60  |

Médias ± erro padrão da média.

Os espermatozoides do jundiá perdem sua viabilidade em função do tempo decorrido após ativação e, durante esse processo, os gametas ficam vulneráveis aos efeitos da qualidade da água (SANCHES, 2010). No presente estudo, a motilidade espermática foi afetada somente pelo tipo de água, apresentando maior número de espermatozoides móveis e rápidos quando o sêmen foi ativado com água de barragem, em comparação à água do poço, independente da temperatura de ativação (Tabela 3).

**Tabela 3.** Médias agrupadas e efeito dos fatores.

|       | Variáveis  |                         |                         |            |           |            |            |
|-------|------------|-------------------------|-------------------------|------------|-----------|------------|------------|
|       | Pr (%)     | Mv (%)                  | Rp (%)                  | Md (%)     | Lt (%)    | Vc (mm/s)  | VI (mm/s)  |
| 15°C  | 51,04±4,64 | 67,84±3,35              | 21,30±4,10              | 40,16±3,02 | 6,39±0,99 | 84,61±3,39 | 67,62±4,88 |
| 20°C  | 51,36±4,42 | 62,51±3,53              | 17,96±3,32              | 38,71±1,92 | 5,84±0,93 | 82,18±3,69 | 69,04±3,85 |
| 25°C  | 50,67±7,33 | 59,80±5,98              | 18,47±4,50              | 36,60±4,29 | 4,73±0,83 | 83,98±3,65 | 71,80±4,96 |
| 30°C  | 45,60±6,19 | 59,80±7,30              | 19,49±3,84              | 34,24±3,87 | 6,08±1,09 | 84,18±2,71 | 66,14±2,54 |
| Barr. | 52,86±4,11 | 66,81±3,74 <sup>a</sup> | 22,67±2,80 <sup>a</sup> | 38,28±2,51 | 5,87±0,67 | 85,67±2,34 | 69,36±3,11 |
| Poço  | 46,47±3,68 | 58,17±3,36 <sup>b</sup> | 15,94±2,36 <sup>b</sup> | 36,58±2,25 | 5,65±0,68 | 81,80±2,20 | 67,94±2,67 |
| DPR   |            |                         |                         |            |           |            |            |
| Temp. | ns         | ns                      | ns                      | Ns         | ns        | ns         | ns         |
| Água  | ns         | 0,03                    | 0,05                    | Ns         | ns        | ns         | ns         |
| T*A   | ns         | ns                      | ns                      | Ns         | ns        | ns         | ns         |

Barr.: barragem; Temp.: temperatura; Pr; progressivos; Mv : móveis; Rp: rápidos; Md: médios; Lt: lentos; Vc: velocidade curvilinear; VI: velocidade linear.

As duas fontes de água utilizadas (poço e barragem), apresentaram perfis diferentes para todos os parâmetros avaliados (Tabela 1), com destaque para condutividade, alcalinidade e dureza, que foram significativamente maiores na água de poço.

A alcalinidade relaciona-se com a capacidade da água de neutralizar ácidos. Águas com alcalinidade abaixo de 30mg/L de CaCO<sub>3</sub> apresentam grandes variações de pH, que deve ser

mantido de 6,5 a 8,0, o que prejudica a sobrevivência e o crescimento dos jundiás. A dureza um parâmetro que caracteriza principalmente o teor de íons de Ca e Mg, que estão combinados ao carbonato e/ou bicarbonato, podendo estar associados também ao sulfato e ao cloreto.

Para jundiá, trabalhos com a influência de alcalinidade e dureza sobre a motilidade espermática são inexistentes. Há, contudo, estudos sobre a influência desses parâmetros no crescimento de juvenis, com faixa ótima de alcalinidade entre 30 e 60 mg/L (TAVARES, 1994). Para crescimento de larvas, a alcalinidade deve ficar entre 30 e 70 mg/L. Para maior taxa de eclosão dos ovos, valores de até 70 mg/L de dureza são os que apresentam os melhores resultados (BALDISSEROTTO, 2004). A sobrevivência das larvas de jundiá também é influenciada pelos valores de dureza, atingindo 80% após 21 dias de cultivo quando mantidas com dureza de 30 ou 70 mg/L. Com 150 mg/L, a sobrevivência diminuiu para menos de 10% (BALDISSEROTTO, 2004). Observando-se os resultados obtidos no presente trabalho e traçando paralelo aos estudos acima citados, nota-se que o comportamento positivo de desempenho, no caso, a motilidade, foi causado pelo tratamento com menores valores de alcalinidade e dureza da água de barragem, que ficaram na faixa ótima para outros índices de desempenho da espécie.

O líquido seminal é rico em nutrientes e íons importantes na estocagem do sêmen nos testículos, ficando os espermatozoides imóveis. O pH (que neste trabalho se manteve na faixa de conforto da espécie) e íons presentes na água podem polarizar a membrana celular e estimular ou inibir a motilidade espermática. Segundo Morisawa et al. (1999), para teleósteos de água doce ou salgada, a exposição dos espermatozoides a meios isosmóticos diminui a motilidade, enquanto meios hiposmóticos ou hiperosmóticos estimulam a motilidade espermática.

Há também influência de íons isolados. Para truta-arco-íris, quanto maior for a concentração do íon  $K^+$  na água, menor é a motilidade. E quanto maior a concentração de  $Ca^{2+}$ , maior é velocidade curvilínea (RURANGWA et al., 2004). A influência de íons sobre a motilidade espermática apresenta comportamento espécie-específico. O valor de condutividade da água do poço foi superior ao da água de barragem, representando a presença de cálcio, magnésio, sódio, carbonatos, cloretos e outros componentes não quantificados, que podem ter prejudicado a motilidade nesse tipo de água.

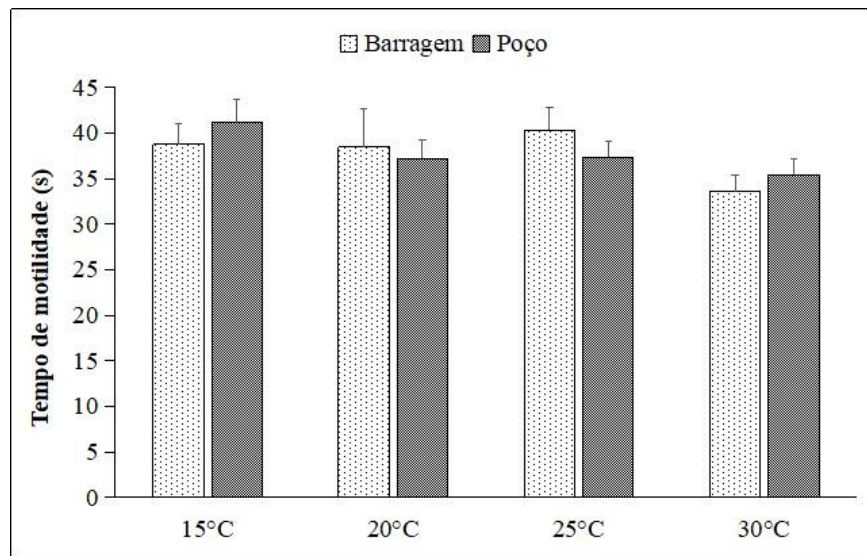
Um dos parâmetros que influencia quase todos os processos físicos, químicos e biológicos da água é a temperatura. Todos os organismos aquáticos são adaptados para determinada faixa de conforto de temperatura. O jundiá pode suportar oscilações na

temperatura, sobrevivendo de 3 a 32°C, desde que seja adaptado lentamente. Para a incubação dos ovos recomenda-se temperatura média de 23°C (GREAFF, 2008).

Aparentemente, altas temperaturas levam à redução do período de motilidade em algumas espécies de peixes. No entanto, essa redução é compensada por maior velocidade quando comparada com baixas temperaturas. O comportamento dos espermatozoides pode ser influenciado por recursos energéticos limitados e, durante a ativação, seu metabolismo pode ser afetado pela temperatura. Este efeito foi encontrado em espermatozoides da truta arco-íris, em que o aumento da temperatura da água causou uma redução da motilidade, aumento das frequências de batimento e redução gradual do tempo de motilidade espermática (BILLARD; COSSON 1992).

A influência da temperatura na motilidade dos espermatozoides está relacionada às estações do ano. A qualidade do esperma é afetada por vários fatores endógenos e exógenos, como a genética (SIMMONS, 2005), o período e as condições de armazenamento dos espermatozoides nos testículos, bem como as condições ambientais favoráveis durante a ativação da motilidade (BILLARD, 1986). Além disso, os oócitos de jundiá também perdem sua viabilidade muito rapidamente e a temperatura é o principal fator que determina essa velocidade (SANCHES et al., 2011). No entanto, no presente trabalho não foram observadas diferenças de motilidade entre as diferentes temperaturas.

Considerando os relatos de diversos autores, os mesmos afirmam existir uma relação entre a duração da motilidade dos espermatozoides e a temperatura, onde o aumento na duração de motilidade ocorre em temperaturas mais baixas (GINZBURG, 1972; VLADIC; JARVI, 1997; LAHNSTEINER et al., 1999; ALAVI; COSSON, 2005). Embora o efeito da temperatura na duração da motilidade espermática seja específico de cada espécie, a supergeneralização não deve ser considerada. Vladic; Jarvi (1997) avaliando a relação do tempo de motilidade com a temperatura da água de ativação em brown trout não encontrou diferenças para o tempo de motilidade. No presente estudo também não foram observadas diferenças para tempo de motilidade espermática (Figura 5).

**Figura 5.** Tempo de motilidade espermática (s).

Fonte: Próprio Autor.

Em espécies com período reprodutivo definido, a qualidade do sêmen varia ao longo da estação reprodutiva, principalmente se os animais já reproduziram neste intervalo de tempo. O volume de ejaculado e a motilidade podem ser menores ao final do período. Assim, torna-se importante estudar os intervalos ótimos para utilização dos reprodutores, mapeando a qualidade do sêmen ao longo da estação (Zbinden et al., 2001).

Embora vários autores (Romagosa et al., 2010); (SANCHES 2013); (Mansour et al., 2002), tenham encontrado diferença na qualidade do sêmen de acordo com a temperatura de ativação, é importante destacar que estes estudos foram realizados no auge da estação reprodutiva. Já o presente trabalho objetivou analisar a qualidade do sêmen ao final da estação, o que pode ter gerado tal diferença nos resultados. A motilidade e o tempo de motilidade espermática podem variar ou não ao longo da estação reprodutiva, tendo comportamento espécie-específico. Tessaro et al. (2012), avaliando diferentes dietas para jundiás ao longo do período reprodutivo, observaram menor motilidade espermática ( $62.57 \pm 3.62\%$ ) no final deste período, sendo semelhante aos dados encontrados neste trabalho. No auge da estação reprodutiva, os autores relataram motilidade acima de 90%. Lanes et al. (2010), avaliando a qualidade do sêmen de linguado (*Paralichthys orbignyanus*) no início, metade e final da estação reprodutiva, não encontrou diferença para motilidade e concentração espermática. No presente estudo, é possível que a qualidade do sêmen estivesse baixa a ponto não ser influenciada pela temperatura.

Como evidenciado, os efeitos da temperatura e fontes de água sobre os parâmetros quantitativos e qualitativos do sêmen são altamente espécie-específicos e recebem influência combinada de fatores secundários endógenos e exógenos. Os resultados apresentados sobre o tema por diversos autores ainda não permitem total conhecimento a respeito dos mecanismos fisiológicos pelos quais a temperatura e a qualidade da água influenciam a qualidade do sêmen (DADRAS et al., 2017). O jundiá é espécie relevante e em crescimento na piscicultura no sul do Brasil, sendo necessários mais trabalhos que indiquem os efeitos diretos e indiretos da água sobre os espermatozoides da espécie, permitindo a produção mais eficiente de larvas e alevinos saudáveis e de qualidade.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários autores relatam que temperaturas baixas ou altas podem levar à redução da qualidade do sêmen em algumas espécies de peixes nativos. Mesmo assim, neste estudo, observou-se que ao final da estação reprodutiva não há efeito da temperatura, mas sim da qualidade da água sobre a motilidade espermática, sendo a água superficial a mais indicada para ativação do sêmen de jundiá.

O trabalho traz resultados importantes para os produtores da região, que apresenta características peculiares de parâmetros de qualidade da água tanto superficial quanto subterrânea. A qualidade das fertilizações e da produção de alevinos pode ser influenciada por tais parâmetros.

Estudos com qualidade de sêmen de jundiá no início, no meio e no final da estação reprodutiva são necessários para permitir o mapeamento dos melhores períodos de coleta de sêmen. Também devem ser levados em consideração os dados já existentes de exigências de temperatura e qualidade da água para as demais fases de criação, como incubação, larvicultura e alevinagem, gerando recomendação técnica que considere os diversos fatores envolvidos na reprodução da espécie.

A utilização de análise espermática computadorizada permite a obtenção de dados (fotos, vídeos e relatórios) de qualidade, que podem ser armazenados para posterior verificação com rapidez e controle de qualidade, podendo ser indicada como ferramenta para estudos de qualidade de sêmen em peixes, desde que seja feita calibração para a espécie.

## REFERÊNCIAS

ADAD, Jesus Miguel Tajra. **Controle químico de qualidade**. Guanabara Dois, 1982.

ALAVI, H; COSSON, J. Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. **Cell biology international**, v. 29, n. 2, p. 101-110, 2005.

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

BALDISSEROTTO, B; RADUNZ NETO, J. Incubação e Larvicultura. **Criação de Jundiá**. Cap.6, p.107-116, 2004.

BILLARD, R. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. **Reproduction Nutrition Développement**, v. 26, n. 4, p. 877-920, 1986.

BILLARD, R; COSSON, M. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. **Journal of Experimental Zoology**, v. 261, n. 2, p. 122-131, 1992.  
Disponível em < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jez.1402610203> >

BOMBARDELLI, Robie Allan et al. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimardm, 1824). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1251-1257, 2006.

BORGES, A. **Valores hematológicos e bioquímicos séricos, efeitos de doses subletais da cipermetrina e características físico-químicas do sêmem do Jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Porto Alegre, 2005. 175 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

BORGES, Adriana et al. Biochemical composition of seminal plasma and annual variations in semen characteristics of jundia *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pimelodidae). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 31, n. 1, p. 45-53, 2005.

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. Water quality and pond soil analysis for aquaculture. Alabama, USA: Alabama Agricultural Experiment Station, 1992. 183p.



CHANG, John P. et al. Signal transduction mechanisms mediating secretion in goldfish gonadotropes and somatotropes. **Biochemistry and Cell Biology**, v. 78, n. 3, p. 139-153, 2000.

CHEREGUINI, O. et al. Artificial fertilization in turbot, *Scophthalmus maximus* (L.): different methods and determination of the optimal sperm–egg ratio. **Aquaculture Research**, v. 30, n. 5, p. 319-324, 1999.

COSSON, Jacky et al. Ionic factors regulating the motility of fish sperm. **The male gamete: from basic science to clinical applications**, p. 161-186, 1999.

CULTURAL, Associação Cultural e Educacional Brasil – ACEB. **1º Anuário Brasileiro da Pesca e Aquicultura**. 2014. Disponível em: [http://formsus.datasus.gov.br/novoimgarq/16061/2489520\\_218117.pdf](http://formsus.datasus.gov.br/novoimgarq/16061/2489520_218117.pdf) >.

DADRAS, Hadiseh et al. Effect of water temperature on the physiology of fish spermatozoon function: a brief review. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 3, p. 729-740, 2017.

DIAS, M; MARIANO, W. **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**. v.2, p. 11- 345. 2015 Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Sandro\\_Aquino\\_Pereira/publication/285596553\\_INFECOES\\_POR\\_ACANTOCEFALOS\\_UM\\_PROBLEMA\\_PARA\\_A\\_PRODUCAO\\_DE\\_PEIXES/links/5723d38f08ae262228aa74be/INFECOES-POR-ACANTOCEFALOS-UM-PROBLEMA-PARA-A-PRODUCAO-DE-PEIXES.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Sandro_Aquino_Pereira/publication/285596553_INFECOES_POR_ACANTOCEFALOS_UM_PROBLEMA_PARA_A_PRODUCAO_DE_PEIXES/links/5723d38f08ae262228aa74be/INFECOES-POR-ACANTOCEFALOS-UM-PROBLEMA-PARA-A-PRODUCAO-DE-PEIXES.pdf) >

ELSTER, J.; MANN, H. Weitere untersuchungen uber die physiologie der befruchtung und die zuordnung der gameten bei fischen. **Arch Hydrobiol Suppl**, v. 20, p. 267-76, 1952.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Mercado da Tilápia – 2º trimestre de 2016**. Palmas: Embrapa, 2016.

FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura**. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. 2018. Disponível em : < <http://www.fao.org/3/i9540es/I9540ES.pdf>>

FEITOSA, F.; MANOEL FILHO, J. **Hidrogeologia, conceitos e aplicações–Perfilagem Geofísica aplicada à água subterrânea**. Fortaleza, 389p. 1997.

FENZL, N; RAMOS, J.F. **Introdução à hidrogeoquímica**. Universidade Federal do Pará, 1986.

FERREIRA, A et al. Águas Subterrâneas: um recurso a ser conhecido e protegido. **Ministério do Meio Ambiente, Associação Brasileira de Águas Subterrâneas, Petrobras, Brasília, DF**, 2007.

GANECO, L et al. Análise morfológica do desenvolvimento ovocitário de piracanjuba, *Bryconorbignyanus*, durante o ciclo reprodutivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 27, n. 2, p. 131-138, 2001.

GHIRALDELLI, Luciana et al. Desenvolvimento gonadal do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, n. 4, 2007.

GINZBURG A.S Fertilization in Fishes and the Problem of Polyspermy. **Israel Program for Scientific Translation**, Jerusalem, Israel, p. 153–173. 1972.

GRAEFF, A.; PRUNER, E.N. **Manejos adotados na Unidade Experimental de Piscicultura/Epagri-Caçador. Apontamentos/anotações**. 11p. 2006.

GODINHO, H.P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 351-360, 2007.

GOMES, L et al. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae) - Revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.1, p.179-185, 2000.

GRAEFF. A et al. **Produção de Alevinos de Jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Boletim Técnico, 2008.

Disponível em:

<[http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao\\_tecnico\\_cientifica/DOC\\_4125.pdf](http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao_tecnico_cientifica/DOC_4125.pdf)>.

JEZIERSKA, B; WITESKA, M. The effect of time and temperature on motility of spermatozoa of common and grass carp. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities. Series Fisheries**, v. 2, n. 02, 1999.

Disponível em : <<https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.agro-article-6ac73beb-d2e5-477c-88a3-0ceaea68598a> >

KUBITZA, F. **Qualidade da água na produção de peixes-Parte III** (final). Panorama Aquicultura, v. 8, p. 35-43, 1998.

LAHNSTEINER, F; BERGER, B; WEISMANN, T. Sperm metabolism of the telost fishes *Chalcalburnus chalcoides* and *Oncorhynchus mykiss* and its relation to motility and viability. **Journal of Experimental Zoology**, v. 284, n. 4, p. 454-465, 1999.

MANSOUR, N.; LAHNSTEINER, F.; PATZNER, R. A. The spermatozoon of the African catfish: fine structure, motility, viability and its behaviour in seminal vesicle secretion. **Journal of Fish Biology**, v. 60, n. 3, p. 545-560, 2002.

MARION, F; CAPOANE, V; DA SILVA, J. Avaliação da qualidade da água subterrânea em poço no campus da UFSM, Santa Maria-RS. **Ciência e Natura**, v. 29, n. 1, p. 97-109, 2007.

MARQUES, S. 2001. **Preservação a curto prazo do sêmen de teleósteos neotropicais de água doce**. 98f. Dissertação (mestrado de Zoologia de Vertebrados) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Belo Horizonte.

MONTANHA, F et al. Características fisiológicas e reprodutivas do *Rhamdia quelen*. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, p. 1-8, 2011.

MORISAWA, M. Transmembrane signal transduction for the regulation of sperm motility in fishes and ascidians. **The male gamete: From basic science to clinical applications**, p. 149-160, 1999.

NARAHARA, M et al. Escala de Maturidade, época de reprodução e influência de fatores abióticos sobre o desenvolvimento gonadal de *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 15 (2): 201-211, 1988.

PAMPLONA, J. H. **Avaliação dos efeitos tóxicos da dipirona sódica em peixe Rhamdia quelen: estudo bioquímico, hematológico e histopatológico**. Curitiba, 2009. 70 Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

ROMAGOSA, E. et al. Sperm motility of *Prochilodus lineatus* in relation to dilution rate and temperature of the activating medium. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 26, n. 5, p. 678-681, 2010. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0426.2010.01531.x>>

ROUTRAY, P. et al. Recent advances in carp seed production and milt cryopreservation. **Fish physiology and biochemistry**, v. 33, n. 4, p. 413-427, 2007.

RURANGWA, E et al. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. **Aquaculture**, v. 234, n. 1-4, p. 1-28, 2004.

SANCHES, E et al. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de dourado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 2091-2098, 2009.

SANCHES, E et al. Estimativa da concentração espermática do sêmen de peixe pelo método de espermátocrito. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1163-1167, 2011.

SANCHES, E et al. Sperm motility of *Rhamdia quelen* studied using computer-assisted analysis by open-source software. **Aquaculture Research**, v. 42, n. 1, p. 153-156, 2010.

SANCHES, E et al. Temperature and storage period over spermatid parameters of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824). **Aquaculture Research**, v. 44, n. 4, p. 534-541, 2013.

SCHULTER, Eduardo Pickler; VIEIRA FILHO, José Eustáquio Ribeiro. **Evolução da piscicultura no Brasil: Diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**. Texto para Discussão, 2017.

SILFVERGRIP, A.M.C. **Uma revisão sistemática do gênero catfish neotropical *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. Estocolmo, Suécia, 1996. 156p. (Tese de Doutorado) - Departamento de Zoologia da Universidade de Estocolmo e do Departamento de Zoologia de Vertebrados, Museu Sueco de História Natural, de 1996.

SIMMONS, W. The evolution of polyandry: sperm competition, sperm selection, and offspring viability. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.**, v. 36, p. 125-146, 2005.

STREIT JR, D et al. Avaliação de diferentes técnicas para coloração de sêmen de peixes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**. UNIPAR, v.7, n.2, p.157-162, 2004a.

STREIT JR, D et al. Comparação do sêmen de Curimbá (*Prochilodus lineatus*) induzido por extrato de hipófise de frango, coelho ou carpa. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 3, p. 147-153, 2004b.

TAVARES, Lucia Helena Sibaua. Limnologia aplicada à aquicultura: FUNEP. **Boletim Técnico**, 70p. 1994.

TAVARES-DIAS, M et al. **Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV. Variáveis do Jundiá *Rhamdia quelen* (Pimelodidae)**. Ciência Rural, Santa Maria, v. 32, n.4, p. 693-698, 2002.

TESSARO, Lucélia et al. Growth and reproductive characteristics of *Rhamdia quelen* males fed on different digestible energy levels in the reproductive phase. **Aquaculture**, v. 326, p. 74-80, 2012.

VAZZOLER, A. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática.**, Universidade Estadual de Maringá, v.169, 1996.

VLADIC, T.; JATRVI, T. Sperm motility and fertilization time span in Atlantic salmon and brown trout the effect of water temperature. **Journal of Fish Biology**, v. 50, n. 5, p. 1088-1093, 1997.

WALTHER, G. et al. Ecological reponse store climate change. **Nature**, v.416, n. 6879, p. 389-395, 2002.

WOYNAROVICH, E; HORVATH, L. A **propagação artificial de peixes de águas tropicais**. 6 ed. Brasília-DF. 1989, 225p.

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

ZBINDEN, M.; LARGIADER, R.; BAKKER, M. Sperm allocation in the three-spined stickleback. **Journal of Fish Biology**, v. 59, n. 5, p. 1287-1297, 2001.

## ANEXOS

### ANEXO A – Metodologia de análise de alcalinidade (BOYD,1992)

#### 1) Reagente:

1.1) Solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01M (ver pureza no frasco; massa p/ 1N)

$d = m / v$

Pipetar 0,5 mL p/ 1L de H<sub>2</sub>O destilada

1º) Colocar H<sub>2</sub>O na proveta (+/- 800 mL).

2º) 0,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.

3º) Completar o volume até 1L de H<sub>2</sub>O destilada

#### 2) Técnica:

2.1) Transferir 100mL de amostra de água p/ um béquer;

2.2) Medir pH desta amostra;

2.3) Titular com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01M até chegar em pH 4,0;

2.4) Anotar volume gasto de ácido na titulação.

#### 3) Cálculo:

$\text{mL H}_2\text{SO}_4 \times M \text{ (molaridade do ácido - 0,01M -)} \times 50\,000$

100mL (vol. Amostra)

**ANEXO B-** Metodologia de análise da Dureza (ADAD, 1982).

**1) Reagentes:**

1.1) Solução de Buffer (tampão):

NH<sub>4</sub>Cl =  
 1000mL ---- 67g  
 50mL ---- X  
 X = 3,375g

NH<sub>4</sub>OH =  
 1000mL ---- 570 mL  
 50mL ---- X

X = 28,5mL

Pesar 3,375g de NH<sub>4</sub>Cl e pipetar 28,5mL de NH<sub>4</sub>OH, completar até 50mL c/ H<sub>2</sub>O dest. (em proveta).

1.2) Solução de Na<sub>2</sub>S (inibidora):

5g ---- 100mL  
 Xg ---- 20mL

X = 1g

Diluir 1g de Na<sub>2</sub>S em 20mL de H<sub>2</sub>O destilada.

1.3) Indicador Negro de Eriocromo (Preto de Eriocromo) :

1g / L = 1000mL--- 1g  
 100mL--- X  
 X=0,10g

Pesar 0,10 g de Negro, após dissolver em 75 mL de álcool e completar para volume de 100mL de H<sub>2</sub>O destilada.

1.4) EDTA: 5g / 1000mL H<sub>2</sub>O = deixar o EDTA 16 a 24 horas na estufa antes de diluir.

**2) TÉCNICA:**

2.1) Pipetar 25 mL de amostra em um Erlenmeyer de 250 mL, acrescentar 25 mL de H<sub>2</sub>O destilada, 1mL da solução Buffer(tampão).

2.2) Adicionar 1 mL de solução inibidora Na<sub>2</sub>S e 1 a 2 gotas do indicador Negro de Eriocromo.

2.3) Titular lentamente com EDTA, agitando continuamente, até que a cor vermelha desapareça e surja a azul.

**3) CÁLCULO:**

$$\text{mL EDTA} \times 1000 = \text{CaCO}_3 \text{ (mg / L)} / 25\text{mL(vol.amostra)}$$



## ANEXO C – Modelo de relatório gerado pelo Sperm Class Analyzer.

**SCA**<sup>®</sup>  
SPERM CLASS ANALYZER

|   |   |
|---|---|
| <b>Referência:</b> morfologia<br><br><b>Data:</b> 13/10/2016<br><b>Centro:</b> BIOTECH | <b>Código:</b> patologia1<br><br><b>Animal:</b> , ideal |
|---|---|

Fresco (21/04/2016 08:10:00)

|                     |             |                  |                   |
|---------------------|-------------|------------------|-------------------|
| <b>Concentração</b> | 258,10 M/mL | 258,10 M/amostra | Volume (mL): 1,00 |
|---------------------|-------------|------------------|-------------------|

|                       | Total | %     | Concentração |           |
|-----------------------|-------|-------|--------------|-----------|
|                       |       |       | M/mL         | M/amostra |
| <b>Progressão</b>     |       |       |              |           |
| Progressivos (PR)     | 575   | 67,41 | 173,98       | 173,98    |
| Não-progressivos (NP) | 173   | 20,28 | 52,35        | 52,35     |
| Imóveis (IM)          | 105   | 12,31 | 31,77        | 31,77     |

|               | Total | %     | Concentração |           |
|---------------|-------|-------|--------------|-----------|
|               |       |       | M/mL         | M/amostra |
| <b>Móveis</b> | 748   | 87,69 | 226,33       | 226,33    |

|                   | Total | %     | Concentração |           |
|-------------------|-------|-------|--------------|-----------|
|                   |       |       | M/mL         | M/amostra |
| <b>Velocidade</b> |       |       |              |           |
| Rápido            | 414   | 48,53 | 125,27       | 125,27    |
| Médio             | 244   | 28,60 | 73,83        | 73,83     |
| Lentos            | 90    | 10,55 | 27,23        | 27,23     |
| Imóveis (IM)      | 105   | 12,31 | 31,77        | 31,77     |

|                                     | Total | %     | Concentração |           |
|-------------------------------------|-------|-------|--------------|-----------|
|                                     |       |       | M/mL         | M/amostra |
| <b>Velocidade e progressividade</b> |       |       |              |           |
| Progressivos rápidos                | 279   | 32,71 | 84,42        | 84,42     |
| Progressivos médios                 | 296   | 34,70 | 89,56        | 89,56     |
| Não progressivos                    | 173   | 20,28 | 52,35        | 52,35     |
| Imóveis                             | 105   | 12,31 | 31,77        | 31,77     |



|                | Média | Imóveis (IM) | Lentos | Médio | Rápido | Unidades        |
|----------------|-------|--------------|--------|-------|--------|-----------------|
| Área da cabeça | 12,19 | 10,75        | 12,04  | 12,66 | 12,28  | µm <sup>2</sup> |

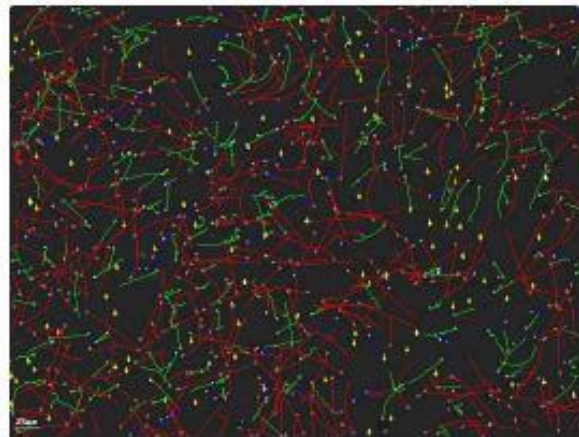
Referência: morbiologia      Código: patologia1      Animal: , ideal      Data: 13/10/2016  
 Centro: BIOTECH

|                  | Concentração |      | Total | %       |
|------------------|--------------|------|-------|---------|
| Células redondas | 0,00         | M/mL | 131   | 15,36 % |

| Valores médios de velocidade | Média | Lentos | Médio | Rápido | Unidades |
|------------------------------|-------|--------|-------|--------|----------|
| Velocidade curvatura         | 98,06 | 39,94  | 73,15 | 125,38 | µm/s     |
| Velocidade linear            | 72,76 | 26,92  | 51,81 | 95,08  | µm/s     |
| Valor médio                  | 88,76 | 33,22  | 64,20 | 115,31 | µm/s     |
| Índice de linearidade        | 74,20 | 67,40  | 70,82 | 75,84  | %        |
| Índice de linearidade        | 81,98 | 81,02  | 80,70 | 82,46  | %        |
| Índice de oscilação          | 90,52 | 83,19  | 87,76 | 91,97  | %        |

| Valores médios de outros parâmetro | Média | Médio | Progressivos rápidos | Unidades |
|------------------------------------|-------|-------|----------------------|----------|
| Amplitude lateral da cabeça        | 1,23  | 1,20  | 1,24                 | µm       |
| Frequência de batimento            | 14,06 | 13,64 | 14,30                | Hz       |

|             | Total | %    | M/mL | M/amostra |
|-------------|-------|------|------|-----------|
| Hyperactive | 6     | 0,70 | 1,82 | 1,82      |



Comentários:

Técnico: Sumame2, Name2