

## CARACTERÍSTICAS SEMINAIS DA PIABANHA, *Brycon insignis* (STEINDACHNER, 1876), APÓS ESTIMULAÇÃO HORMONAL\*

[Seminal characteristics of piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1876), after hormonal stimulation]

Elaine Fender de ANDRADE-TALMELLI<sup>1,3</sup>, Emico Tahira KAVAMOTO<sup>1</sup>, Nelsy FENERICH-VERANI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pesquisador Científico – Centro de Pesquisa em Reprodução e Larvicultura – Instituto de Pesca-SAA,

<sup>2</sup> Prof<sup>a</sup> Dra. Departamento de Hidrobiologia – Universidade Federal de São Carlos – UFSCar - Rodovia Washington Luiz, km 235 – CEP 13565-905

<sup>3</sup> Endereço/Address: Av. Francisco Matarazzo, 455 – Água Branca – São Paulo – CEP – 05001-900 e-mail – [etalmelli@ig.com.br](mailto:etalmelli@ig.com.br)

\* Parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora. Projeto financiado pela CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e IP-SAA (Instituto de Pesca – Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo)

### RESUMO

A fim de subsidiar trabalhos de reprodução artificial de piabanha, *Brycon insignis*, foram analisadas as características seminais após a aplicação de 3 UI de hCG/g do peso corporal. O experimento foi realizado no período de janeiro/fevereiro-96 e em fevereiro-97, utilizando 50 machos maduros, com idades variando entre 3 e 5 anos e que estavam liberando sêmen com motilidade espermática de, no mínimo, 80%. O plantel de reprodutores pertencia à Estação Experimental da Seção de Hidrobiologia e Aqüicultura da Companhia Energética de São Paulo, na cidade de Paraibuna, SP. Os exemplares apresentaram, em média, 29,3 cm de comprimento e 229,3 g de peso total e liberaram sêmen de coloração branco leitosa. Dezesesseis horas após a aplicação hormonal, as características seminais foram avaliadas, e os valores estimados pelo intervalo de confiança de 95% foram: volume seminal, 4,41 a 4,96 mL; motilidade espermática subjetiva direta, 90,10 a 91,70%; porcentagem de espermatozoides vivos, determinada pelo método da coloração diferencial, 90,47 a 91,50% e concentração de espermatozoides, 24,43 x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup> a 25,10 x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>. Não se evidenciou diferença significativa entre o porcentual de células espermáticas vivas, obtido através do exame direto subjetivo, e aquele obtido pela contagem do número de espermatozoides vivos, não corados, através do método de coloração diferencial, quando aplicado o teste de qui-quadrado, no nível de 5% de significância. Durante o desenvolvimento do experimento, a temperatura da água foi de 26 ± 1°C.

**Palavras-chave** : peixe, piabanha, *Brycon insignis*, características seminais, sêmen

### ABSTRACT

In order to subsidize studies about artificial reproduction of piabanha, *Brycon insignis*, it was investigated the seminal characteristics after application of 3 IU/g of hCG (human Chorionic Gonadotropin). The experiment was developed during the periods of January-February/96 and February/97, utilizing 50 three to five years-old mature males, which were liberating semen with a minimum sperm motility of 80%. The males were maintained at Experimental Station of Hydrobiology and Aquaculture Section, of Companhia Energética de São Paulo, in Paraibuna, São Paulo State. The males presented an average of 29.3 cm of length and of 229.3 of total weight and liberated a milky white semen. Sixteen hours after the application of the hormone, the seminal characteristics were examined and the values obtained, when estimated by confidence interval (95%), were: semen volume, 4.41 to 4.96 mL; sperm motility, 90.10 to 91.70%, percentage of live sperm by differential staining method, 90.47 to 91.50% and spermatoc concentration, 24.43 x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup> to 25.10 x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>. There was no statistically significant difference between the percentage of sperm motility by microscopic examination and the percentage of live sperm obtained by differential staining method, when applied the chi-square test (p < 0.05). During the development of the experiment, the water temperature was 26°C ± 1°C.

**Key words** : fish, piabanha, *Brycon insignis*, seminal characteristics, sperm

### Introdução

Piabanha é a denominação regional de espécie de peixe de água doce pertencente a família Characidae, subfamília Bryconinae, gênero

*Brycon*, classificada como *Brycon insignis* por Steindachner, em 1876 (FOWLER, 1950). Considerada espécie de grande porte, atingindo aproximadamente 8,0 a 10,0 kg de peso, ocorre somente na bacia do Rio Paraíba do Sul (NOMURA,

1984; SANTOS, 1987; PEREIRA, 1986). Na década de 50, chegou a ocupar lugar de destaque na economia de certos municípios da região, sendo a 4ª espécie mais capturada na pesca comercial (MACHADO e ABREU, 1952).

Segundo SALGADO *et al.* (1997), o período reprodutivo da espécie estende-se de dezembro a fevereiro, o macho está apto a reproduzir-se no segundo ano de vida, quando alcança cerca de 20,0 cm de comprimento, e a fêmea, a partir do terceiro ano de vida, após atingir 25,0 cm de comprimento total. A fecundação dos óvulos é externa e a desova ocorre quando o nível das águas está em ascensão em virtude das chuvas de verão. A incubação dos ovos é realizada em lagoas marginais ou em áreas de remanso, onde os alevinos encontram alimento e refúgio para seu desenvolvimento. A sobrevivência dessa espécie encontra-se bastante ameaçada pela poluição do Rio Paraíba através do lançamento de esgoto doméstico, industrial e agropecuário, como, também, pela introdução do dourado (*Salminus maxillosus*), um voraz predador. Estes fatores, associados à construção da Usina Hidrelétrica de Paraíba/Paraitinga, que alterou a dinâmica do rio, impedindo que as espécies reofílicas realizassem migração reprodutiva, comprometeram seriamente a perpetuação dessas espécies.

Com a redução acentuada dos estoques naturais torna-se necessária a adoção de estratégias adequadas para a obtenção de alevinos em cativeiro. Portanto, o presente estudo tem o objetivo de conhecer as características seminais dos reprodutores de *Brycon insignis*, após a indução hormonal, visando subsidiar trabalhos de reprodução induzida e criopreservação do sêmen.

## Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido na Estação Experimental da Seção de Hidrobiologia e Aqüicultura, pertencente à CESP (Companhia Energética de São Paulo), e localizada na cidade de Paraíba, SP. Foram utilizados reprodutores de piabanha, *Brycon insignis*, com idades variando entre 3 e 5 anos e mantidos em viveiros de 600 m<sup>2</sup>, com fundo de terra. Após a captura, com auxílio de rede de arrasto, foram transportados vivos até o laboratório em recipientes plásticos contendo cerca de 40 litros de água. No laboratório, os exemplares foram anestesiados individualmente em solução de mentol a uma concentração de 100 ppm (em 10 litros de água), para obtenção de dados de comprimento

total (cm) e peso total (g).

Cinqüenta machos foram selecionados por avaliação macro e microscópica de amostras de sêmen, obtidas por massagem abdominal realizada no sentido ântero-posterior; em seguida, os machos foram distribuídos em tanques de cimento com capacidade de 2000 litros, com água corrente, anotando-se a temperatura da água durante o desenvolvimento do experimento.

Macroscopicamente, o sêmen foi analisado quanto a coloração e fluidez e, microscopicamente, quanto à motilidade dos espermatozoides.

Os machos que liberaram sêmen viscoso, de coloração esbranquiçada e motilidade espermática média de 80%, foram selecionados e receberam uma única injeção intraperitoneal de gonadotropina coriônica humana (hCG- Pregnyl), na dosagem de 3 UI/g de peso.

Dezesseis horas após o tratamento hormonal, como preconiza KAVAMOTO *et al.* (1996), os machos foram anestesiados individualmente em solução de mentol, e, após a secagem completa da região urogenital, o sêmen foi coletado em tubos de ensaio graduados, através de compressão do abdômen, realizada cuidadosamente no sentido ântero-posterior, até os primeiros sinais de sangramento. De cada amostra coletada foram analisadas as seguintes características:

*Volume de sêmen:* observado no próprio tubo de coleta, anotando-se a quantidade em mililitros (mL).

*Cor do sêmen:* indica uma maior ou menor quantidade de fluido seminal, que terá influência direta na concentração de espermatozoides e conseqüentemente, na cor do sêmen. A presença de fezes, urina ou sangue será um fator limitante para o aproveitamento do material.

*Motilidade espermática:* observada sob microscópio de contraste de fase (400 x), misturando-se sobre uma lâmina uma gota de sêmen com duas de solução de bicarbonato de sódio a 1%. A estimativa da percentagem de células móveis seguiu a escala arbitrária de 0 a 100%, segundo SALISBURY e VANDEMARK (1964).

*Porcentagem de espermatozoides vivos avaliada através da coloração diferencial:* foram colocadas separadamente, sobre uma lâmina, uma gota de sêmen, pouco mais de duas gotas de eosina B (solução a 5%) e a mesma quantidade de nigrosina (solução a 10%). Misturaram-se cuidadosamente, numa seqüência rápida, os corantes ao sêmen. Fez-se um esfregaço em outra lâmina, seguindo-se a técnica utilizada para esfregaços sanguíneos, sendo este seco sobre chama, completando a operação no

máximo em um minuto como recomenda BLOM (1950). A leitura foi realizada em microscópio de contraste de fase DIALUX 20, com objetiva de imersão (100x). Os espermatozoides são permeáveis à eosina, corando-se em vermelho, enquanto que as células vivas permanecem não coradas. A observação do material foi feita aproximadamente 2 horas após a coleta.

*Concentração de espermatozoides por mm<sup>3</sup>*: o sêmen de cada amostra foi diluído em pipeta de Thoma para glóbulos vermelhos, utilizando-se formol salino (HANCOCK, 1957). A contagem do número de espermatozoides foi realizada em câmara hematómica tipo Neubauer "Improved", sob microscópio de contraste de fase com objetiva 40x. A média das contagens feitas em dois retículos foi multiplicada por 50000.

Dos dados obtidos foram calculados os valores médios, o desvio padrão, o coeficiente de variação e o limite de confiança.

Para comparar as porcentagens de motilidade espermática e as de espermatozoides vivos obtidos pela coloração diferencial, foi empregado o teste de qui-quadrado, em nível de 5% de significância (AYRES *et al.*, 2000).

## Resultados e Discussão

Os 50 exemplares selecionados de piabanha, *Brycon insignis*, apresentaram comprimento total variando entre 26,5 e 34,0 centímetros (média de 29,3 ± 1,8 cm) e peso total, entre 146,0 e 353,0 gramas (média de 229,3 ± 45,8 g). Dezesesseis horas após a aplicação hormonal os machos liberaram sêmen fluido e de coloração branco-leitosa. Durante o experimento, a temperatura da água dos tanques de cimento oscilou entre 25 e 27° C.

O volume de sêmen variou de 4,41 a 4,96 mL considerando-se intervalo de confiança de 95% com média de 4,68 mL (Tabela 1), sendo superior ao volume encontrado em *Rhamdia hilarii* (1,15 mL), por FOGLI DA SILVEIRA; KAVAMOTO; NARAHARA (1985) e em *Prochilodus scrofa* (1,10 mL), por KAVAMOTO; FOGLI DA SILVEIRA; GODINHO (1986) injetados com hCG. Todavia, foi próximo de 5,02 mL, coletados de exemplares de *Piaractus mesopotamicus* que receberam aplicação do mesmo hormônio (FOGLI DA SILVEIRA *et al.*, 1990). ROMAGOSA (1998) verificou que os machos de *Brycon cephalus* produzem em média 7,0 mL de sêmen, após 4 horas de ação hormonal. De acordo com KOBAYASHI; AINDA; HANYU (1986), o aumento da produção de sêmen após aplicação de

hCG indicou que a elevação dos níveis de gonadotropina (GtH) circulante induz a espermiacção e a hidratação seminal.

A qualidade do sêmen geralmente é avaliada pela intensidade de motilidade, baseada na porcentagem de células espermáticas móveis observada no campo microscópico, como descrito em KAVAMOTO *et al.* (1985), KAVAMOTO; FOGLI DA SILVEIRA; GODINHO (1986); FOGLI DA SILVEIRA *et al.* (1990); BILLARD e COSSON (1992); BILLARD; COSSON; CRIM (1993); LINHART *et al.* (1995); KAVAMOTO *et al.* (1996). Atualmente, diversos pesquisadores realizam essa avaliação utilizando programas de computador (LAHNSTEINER *et al.*, 1995; 1997; CHRIST *et al.*, 1996; RAVINDER *et al.*, 1997).

Uma característica do sêmen de piabanha, como ocorre na maioria dos peixes de água doce, é a curta duração da motilidade dos espermatozoides. Quando o sêmen é diluído em água doce ou destilada, a duração da motilidade é de aproximadamente 40 segundos. O período de motilidade é curto devido à incapacidade de a mitocôndria satisfazer a elevada demanda energética do flagelo (BILLARD, 1992). A adição da solução de NaHCO<sub>3</sub> a 1% (STEIN e BAYRLE, 1978), como diluente do sêmen, aumenta o período de motilidade dos espermatozoides, fato comprovado por KAVAMOTO; FOGLI DA SILVEIRA; CARVALHO FILHO (1985), que verificaram motilidade média igual a 64,45% no sêmen de *Salmo irideus* Gibbons ativado com água e por KAVAMOTO *et al.* (1987), em sêmen ativado com NaHCO<sub>3</sub> a 1%, em que a motilidade das células espermáticas atingiu valor médio de 90,65% e mantiveram-se móveis por cerca de 1 minuto. A motilidade espermática estimada para o pacu *Piaractus mesopotamicus* após estimulação hormonal foi em média 89%, segundo KAVAMOTO (1998). Estes valores estão bem próximos do valor médio de 90,9%, encontrado para *Brycon insignis* no presente experimento.

A avaliação dos espermatozoides, pelo método da coloração diferencial em vivos e mortos (BLOM, 1950) demonstrou que os exemplares de piabanha apresentaram valor médio de células vivas igual a 91,21%. Este valor é superior a 89,13%, descrito por KAVAMOTO; FOGLI DA SILVEIRA; GODINHO (1986) para exemplares de *Prochilodus scrofa* capturados no Rio Mogi-Guaçu, e àquele encontrado por GODINHO *et al.* (1984) em animais mantidos em confinamento. Ainda, foi superior ao valor médio de 86,73%, relatado por KAVAMOTO e FOGLI DA SILVEIRA (1986) para *Rhamdia hilarii*. Entretanto, foi inferior a 97,01%, valor obtido por FRIBOURGH (1966) para *Carassius*

**Tabela 1.** Dados individualizados de volume seminal (mL); motilidade espermática (%); espermatozoides vivos (%) e concentração espermática (nº de espermatozoides x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup>), com seus respectivos valores médios ( $\bar{x}$ ), desvios padrão (s), coeficientes de variabilidade de Pearson (CV) e intervalos de confiança (IC), utilizando a distribuição “t” de student para 95% de confiança, em 50 machos de piabanha, *Brycon insignis*, 16 horas após a aplicação de hCG

Nº	Volume seminal	Motilidade espermática	Espermatozoides vivos	Concentração espermática
1	3,90	90,00	89,64	22,78
2	4,00	90,00	89,93	24,65
3	3,90	90,00	90,40	24,60
4	4,00	95,00	93,88	22,25
5	6,00	90,00	91,73	26,95
6	5,50	90,00	89,32	25,25
7	3,80	95,00	93,70	25,20
8	6,00	90,00	90,28	25,80
9	7,00	90,00	91,13	25,45
10	3,80	90,00	88,65	22,95
11	4,00	90,00	89,11	24,80
12	3,90	90,00	90,31	26,45
13	4,00	90,00	90,95	25,35
14	6,00	95,00	95,56	24,65
15	6,00	90,00	89,57	26,50
16	5,50	90,00	92,76	25,00
17	4,00	90,00	90,48	23,45
18	4,00	90,00	89,18	23,75
19	4,00	95,00	96,19	23,50
20	4,00	90,00	89,96	25,25
21	4,80	95,00	95,76	23,90
22	5,80	90,00	91,55	25,30
23	5,00	95,00	93,31	24,70
24	4,50	95,00	96,55	25,70
25	4,20	90,00	91,30	25,50
26	4,30	90,00	91,50	25,95
27	3,90	95,00	94,46	24,50
28	5,00	90,00	90,46	22,05
29	4,00	95,00	92,40	25,00
30	4,50	90,00	94,80	24,70
31	5,00	95,00	93,75	22,50
32	4,00	95,00	97,00	26,50
33	4,50	90,00	92,76	24,25
34	6,00	95,00	93,62	26,12
35	4,00	85,00	88,12	23,77
36	4,30	90,00	91,39	22,15
37	4,50	90,00	86,00	26,05
38	3,90	90,00	89,00	24,85
39	6,00	90,00	90,23	25,55
40	7,00	85,00	87,60	24,50
41	4,20	90,00	88,26	24,95
42	7,00	90,00	90,37	24,35
43	4,30	90,00	91,09	25,67
44	6,00	95,00	85,02	25,15
45	3,80	90,00	89,12	25,05
46	3,90	90,00	91,10	26,00
47	4,20	85,00	89,00	25,00
48	4,30	90,00	91,00	25,56
49	3,90	85,00	90,00	24,78
50	4,10	90,00	91,12	23,56
<b>X<sup>2</sup> = 0,005</b> <b>X<sup>2</sup><sub>0,05</sub> = 3,84</b> <b>(1 G.L.)</b>	$\bar{X}$ = 4,68	90,90	91,21	24,76
	S = 0,95	2,80	2,60	1,18
	CV% = 20,38	3,10	2,85	4,63
	IC = 4,4 – 4,9	90,1 – 91,7	90,5 – 91,5	24,4 – 25,1

*auratus*, e a 93,73%, observado por KAVAMOTO (1993) para *Prochilodus scrofa*.

Para os machos de piabanha, a avaliação direta subjetiva da motilidade das células espermáticas e o exame objetivo obtido pela coloração diferencial de espermatozoides vivos e mortos, mostraram

estreita relação, apresentando valores médios de 90,90% e 91,21%, respectivamente. Com a aplicação do teste do qui-quadrado, verificou-se não haver diferença estatística significativa no nível de 5% de probabilidade, entre os valores da motilidade espermática obtidos através da avaliação

direta subjetiva e da objetiva descrita por BLOM (1950) (Tabela 1). Esses resultados corroboram as observações de FRIBOURGH (1966) e KAVAMOTO e FOGLI DA SILVEIRA (1986), para *Rhamdia hilarii* e KAVAMOTO *et al.* (1985) e KAVAMOTO (1996), para *Salmo irideus* e *Prochilodus scrofa*, respectivamente.

Segundo SALISBURY e VANDEMARK (1964), a determinação da concentração espermática é um dado fundamental na rotina da reprodução artificial, no sentido de se conhecer a quantidade de material fecundante. No presente estudo, observou-se média de  $24,76 \times 10^6$  espermatozoides/mm<sup>3</sup> de sêmen (Tabela 1). Este valor é inferior ao observado por KAVAMOTO e FOGLI DA SILVEIRA (1986) em *Rhamdia hilarii* ( $66,53 \times 10^6$  espermatozoides/mm<sup>3</sup>), por FOGLI DA SILVEIRA *et al.* (1990) em *Piaractus mesopotamicus* ( $28,09 \times 10^6$  espermatozoides/mm<sup>3</sup>) e por KAVAMOTO (1993) em *Prochilodus scrofa* ( $26,18 \times 10^6$  espermatozoides/mm<sup>3</sup>), quando injetados com hCG. Entretanto, é superior aos limites de  $15,30 \times 10^6$  e  $20,69 \times 10^6$  espermatozoides/mm<sup>3</sup>, obtidos respectivamente por BILLARD; BRETON; JALABERT (1981) e BILLARD (1974) em *Salmo gairdneri*.

## Conclusões

- Os machos de piabanha, *Brycon insignis* após 16 horas após a indução hormonal produziram em média 4,68 mL de sêmen;
- O valor da motilidade espermática, estimado através da observação direta subjetiva e aquele obtido pela contagem do número de células vivas, pela coloração diferencial, são em média 90,90 e 91,21%, respectivamente, não sendo encontrada diferença estatística significativa, a 5% de probabilidade ( $X^2=0,005$ );
- A concentração de células espermáticas foi em média  $24,76 \times 10^6$ /mm<sup>3</sup>.

## Agradecimentos

As autoras agradecem à CESP (Companhia Energética de São Paulo), pelas facilidades oferecidas e pelo apoio recebido da parte de todos os funcionários da Estação Experimental da Seção de Hidrobiologia de Paraibuna, São Paulo.

## Referências Bibliográficas

AYRES, M.; AYRES JR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. 2000 *Bioestat 2.0. Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas*. Sociedade Civil Mamirauá/MCT-CNPq. 259 p.

BILLARD, R. 1974 La production spermatogénétique de la truite arc-en-ciel au cours du premier cycle reproducteur. *Bull. Fr. Pisc.*, 253:139-149.

\_\_\_\_\_. 1992 Reproduction in rainbow trout: sex differentiation dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. *Aquaculture*, Amsterdam, 100(4):263-298.

\_\_\_\_\_; BRETON, B.; JALABERT, B. 1981 La production spermatogénétique chez la truite. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 11(2):199-212.

\_\_\_\_\_ e COSSON, M. P. 1992 Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. *The Journal of Experimental Zoology*, 261:122-131.

\_\_\_\_\_; COSSON, M. P.; CRIM, L. W. 1993 Motility of fresh and aged halibut sperm. *Aquatic Living Resources*, 6:667-675.

BLOM, E. 1950 A one minute live-dead sperm by means of eosin-nigrosin. *Fertility and Sterility*, 1(2):176-177.

CHRIST, S. A.; TOH, G. P.; MCCARTHY, H. W.; TORSSELLA, J. A.; SMITH, M. K. 1996 Motility variation in sperm analysis (CASA). *J. Fish Biol.*, 4:1210-1222.

FOGLI DA SILVEIRA, W.; KAVAMOTO, E. T.; NARAHARA, M. Y. 1985 Avaliação da qualidade e criopreservação em forma de "pellets" do sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840). *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 12(4): 7-11.

\_\_\_\_\_; KAVAMOTO, E. T.; CESTAROLLI, M. A.; GODINHO, H. M.; RAMOS, S. M.; SILVEIRA, A. N. 1990 Avaliação espermática, preservação criogênica e fertilidade do sêmen do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), proveniente de reprodução induzida. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 17 (único): 1-3.

FOWLER, H. W. 1950 Os Peixes de Água Doce do Brasil. *Arquivos de Zoologia*, 6:333-340.

FRIBOURGH, J. H. 1966 The application of a differential staining method to low-temperature studies on goldfish spermatozoa. *The Progressive Fish Culturist*, 28(4):227-231.

GODINHO, H. M.; ROMAGOSA, E.; CESTAROLLI, M. A.; NARAHARA, M. Y.; FENERICH-VERANI, N. 1984 Reprodução induzida do curimatá, *Prochilodus scrofa*, Steind. 1881 sob condições de cultivo experimental. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 8(2): 113-119.

- HANCOCK, J. L. 1957 The morphology of boar spermatozoa. *J. Roy. Micro. Soc.*, 76:1-84.
- KAVAMOTO, E. T. 1993 *Efeito da ação hormonal sobre as características seminais do curimatá, Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881. São Paulo, 101p. (Dissertação De Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP).
- \_\_\_\_\_. 1998 *Efeito da estimulação hormonal sobre as características seminais, desenvolvimento dos testículos e ocorrência de células espermáticas anormais no sêmen do pacu, Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). São Paulo, 115 p. (Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP).
- \_\_\_\_\_; FOGLI DA SILVEIRA, W.; RIGOLINO, M. G.; CARVALHO FILHO, A. C. 1985 Avaliação macro e microscópica do sêmen da truta arco-íris, *Salmo irideus* Gibbons. *B. Inst. Pesca*, 12(3): 73-81.
- \_\_\_\_\_. e FOGLI DA SILVEIRA, W. 1986 Características físicas, químicas e microscópicas do sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) em condições de campo. *B. Inst. Pesca*, 13(1):95-100.
- \_\_\_\_\_; FOGLI DA SILVEIRA, W.; GODINHO, H. M. 1986 Características seminais do curimatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881. *B. Inst. Pesca*, 13(2):45-50.
- \_\_\_\_\_; FOGLI DA SILVEIRA, W.; RIGOLINO, M. G.; TABATA, Y. A.; CAMPOS, B. E. S. 1987 Produção espermática e teste de fertilização do sêmen da truta arco-íris, *Salmo irideus* Gibbons, no primeiro ciclo reprodutivo. *B. Inst. Pesca*, 14(único):51-62.
- \_\_\_\_\_; NARAHARA, M. Y.; MAINARDES-PINTO, C. S. R.; ANDRADE-TALMELLI, E. F. DE; ROMAGOSA, E.; FERRAZ, E. DE M. 1996 Efeito do hCG na produção de sêmen do curimatá (*Prochilodus scrofa*, Steindachner, 1881). *Revista Ceres*, 43(245): 76-85.
- KOBAYASHI, M. A.; AINDA, K.; HANYU, I. 1986 Effects of hCG on milt amount and plasma level of steroid hormones in male goldfish. *Jap. Soc. Sc. Fish.*, 52(4):755-756.
- LAHNSTEINER, F.; BERGER, B.; WEISMANN, T.; PATZNER, R. 1995 Fine structure and motility of spermatozoa and composition of the seminal plasma in the perch. *J. Fish Biol.*, 47:4492-4508.
- LAHNSTEINER, F.; BERGER, B.; WEISMANN, T.; PATZNER, R. 1997 Sperm motility and seminal fluid composition in the burbot, *Lota lota*. *Journal of Applied Ichthyology*, 13:113-119.
- LINHART, O.; PETER, R. E.; ROTHBARD, S.; ZOHAR, Y.; KVASNICKA, P. 1995 Spermiation of common perch (*Tinca tinca* L.) stimulated with injection or implantation of GnRh analogues and injection of carp pituitary extract. *Aquaculture*, Amsterdam, 129:119-121.
- MACHADO, C. E. M. e ABREU, E. C. F. 1995 Notas preliminares sobre a caça e a pesca no Estado de São Paulo - I) A Pesca no Vale do Paraíba. *Boletim de Indústria Animal*, 13 :145-160.
- NOMURA, H. 1984 *Dicionário dos Peixes do Brasil*. Brasília, Editerra, 482 p.
- PEREIRA, R. 1986 *Peixes de Nossa Terra*. 2ª Ed. , Editora Nobel, 129 p.
- RAVINDER, K.; NASARUDDIN, K.; MAJUMDAR, K. C.; SHIVAJI, S. 1997 Computerized analysis of motility, motility patterns and motility parameters of spermatozoa of carp following short-term storage of semen. *J. Fish Biol.*, 50:1309-1338.
- ROMAGOSA, E. 1998 *Desenvolvimento gonadal (Morfologia; Ultra-Estrutura) e indução da reprodução do matrinhã, Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativo, Vale do Ribeira, São Paulo. São Carlos, 218 p. (Tese de Doutorado, Programa de Ecologia e Recursos Naturais. Universidade Federal de São Carlos).
- SALGADO, A. F. G.; CHAIN, M. G.; GIRARDI, L.; FARIA, C. A. 1997 A Conservação da piabanha (*Brycon insignis*) na Bacia do Rio Paraíba do Sul. *Relatório Técnico-CESP*. 1-28.
- SALISBURY, G. M. e VANDEMARK, N. L. 1964 *Fisiología de la reproducción y de la inseminación artificial de los bóvidos*. Zaragoza, Acribia, 707 p.
- SANTOS, E. 1987 *Peixes de Água Doce (Vida e Costumes dos Peixes do Brasil)*. 4ª Ed. Editora Itatiaia Ltda.
- STEIN, H. e BAYRLE, H. 1978 Cryopreservation of the sperm of some freshwater teleosts. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 8(4):1073-1076.