

ACÇÃO DE DIFERENTES INDUTORES REPRODUTIVOS HORMONAIIS NO APARECIMENTO DE ANORMALIDADES MORFOLÓGICAS EM ESPERMATOZÓIDES DE PIAVUÇU (*Leporinus macrocephalus*), CURIMBATÁ (*Prochilodus lineatus*) E CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)

Gentil Vanini de MORAES^{1,4}; Danilo Pedro STREIT JR.²; Ricardo Pereira RIBEIRO¹; Eduardo Shigueiro SAKAGUTI¹; Ederval Donizeti de SOUZA³; Jayme Aparecido POVH²

RESUMO

Foram avaliados os espermatozóides de 27 carpas comuns (*Cyprinus carpio*), 55 piavuços (*Leporinus macrocephalus*) e 48 curimatás (*Prochilodus lineatus*), induzidos à reprodução com extrato de hipófise de carpa (EHC), frango (EHF) e coelho (EHCo). Esfregaços foram produzidos e corados pelo método Rosa Bengala, para avaliar 200 a 230 espermatozóides de cada peixe. Em *C. carpio* e *P. lineatus* não houve diferença ($P > 0,05$), entre os tratamentos (EHC, EHF e EHCo), quanto ao número de espermatozóides normais. Entretanto, em *L. macrocephalus* induzido com EHCo, o número de espermatozóides normais (31,2%) foi menor ($P < 0,05$) em relação àquele dos peixes induzidos com EHC (51%) e EHF (46,5%). A incidência de espermatozóides com anormalidade primária foi de 13,8; 10,3 e 15,2% em *C. carpio*, de 12,5; 9,5 e 8,2% em *L. macrocephalus* e 14,3; 15 e 15,1% em *P. lineatus*, nos tratamentos com EHC, EHF e EHCo, respectivamente, não existindo diferença entre esses valores ($P > 0,05$). Em *L. macrocephalus*, o número de espermatozóides com anormalidade secundária foi bem elevado nos animais induzidos com EHCo ($P < 0,05$). Já em *C. carpio*, espermatozóides com anormalidade secundária foram pouco mais freqüentes ($P < 0,05$) nos exemplares induzidos com EHCo (32,7%), em relação aos induzidos com EHC (23,6%). Em *P. lineatus* não houve diferença ($P < 0,05$) entre as ocorrências de espermatozóides com anormalidade secundária, nos diferentes tratamentos. Em *C. carpio*, *L. macrocephalus* e *P. Lineatus*, induzidos com EHC, EHF e EHCo, as anormalidades mais freqüentes foram cabeça solta e cauda solta. Pelos resultados obtidos, o EHCo não seria indicado para induzir a reprodução de machos de *L. macrocephalus*, apesar de não existirem informações para interpretar o aparecimento de anormalidade em espermatozóides de peixes.

Palavras-chave: extrato de hipófise; anormalidade em espermatozóide; peixe; piscicultura; sêmen

THE EFFECT OF DIFFERENT HORMONAL INDUCERS OF REPRODUCTION ON THE EMERGENCE OF MORPHOLOGICAL ABNORMALITIES IN SPERMATOOA OF PIAVUÇU (*Leporinus macrocephalus*), CURIMBATÁ (*Prochilodus lineatus*), AND COMMON CARP (*Cyprinus carpio*)

ABSTRACT

The spermatozoa of 27 specimens of common carp, *Cyprinus carpio*, 55 of piavuçu, *Leporinus macrocephalus*, and 48 of curimatá, *Prochilodus lineatus*, were evaluated. The fishes were induced to reproduction with hypophysis extract of carp (CHE), broiler chicken (BCHE), and rabbit (RHE). Rubbing were produced and stained using Rosa Bengala's method, in order to evaluate 200 to 230 spermatozoa of each fish. Considering *C. carpio* and *P. lineatus*, there was no difference ($P > 0.05$) among the treatments (CHE, BCHE, and RHE) in what concerns the occurrence of normal

Artigo Científico: Recebido em 20/07/2003 – Aprovado em 15/09/2004

¹ Prof. Dr. do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá (PPZ/UEM)

² Aluno do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá (PPZ/UEM)

³ Aluno de Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Bolsista do CNPq

⁴ Endereço/Address: Av. Colombo, 3790 – CEP: 87020-900 – CCA/DZO

spermatozoa. However, in individuals of *L. macrocephalus* induced with RHE (30.2%), the number of normal spermatozoa was smaller ($P < 0.05$) in relation to that of the fishes induced with CHE (51%) or BCHE (46.5%). The values of the incidence of primary abnormalities were similar ($P < 0.05$) among the tested species, that is, taking into consideration the three used treatments, such values were: in *C. carpio*, 13.8; 10.3 and 15.2%, in *L. macrocephalus*, 12.5; 9.5 and 8.2%, and in *P. lineatus*, 14.3; 15 and 15.1%, with the treatments CHE, BCHE, and RHE, respectively. Concerning the secondary spermatid abnormalities, its occurrence in *L. macrocephalus* was greater in the animals induced with RHE ($P < 0.05$). In *C. carpio*, the highest frequency of secondary abnormalities was also registered ($P < 0.05$) in the individuals induced with RHE (32.7%), but the difference in relation to the other treatments was small, that is, in CHE the frequency of such abnormalities was 23.6%. In *P. lineatus* there was no difference ($P < 0.05$) among the occurrences of the secondary abnormalities, considering the used treatments of induction. Relative to the different spermatid abnormalities registered in the present study, loose head and loose tail were the most frequent in the three species: *C. carpio*, *L. macrocephalus*, and *P. lineatus*, induced with CHE, BCHE, and RHE. Based on the obtained data, it can be stated that RHE is not to be indicated for inducing *L. macrocephalus* males, although there is no information for interpreting the appearance of fish spermatozoa abnormalities.

Key words: hypophysis extract; abnormalities in spermatozoa; fishes; pisciculture; semen

INTRODUÇÃO

No Brasil, as espécies de peixes com potencial para criação e engorda em cativeiro são, em sua maioria, reofílicas (CECARELLI *et al.*, 2000).

O piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) e o curimatá (*Prochilodus lineatus*) são espécies de piracema, que se reproduzem nas cabeceiras dos rios, de novembro a janeiro (BRITSKY, 1999). Por serem espécies reofílicas, migrando, conseqüentemente, em direção à cabeceira dos rios para a reprodução, necessitam de indução hormonal para se reproduzirem em cativeiro (CASTAGNOLLI, 1992).

A carpa comum (*Cyprinus carpio*), que não requer indução hormonal para se reproduzir (LIN e PETER, 1991), é uma espécie exótica no Brasil e não necessita migrar para se reproduzir (CASTAGNOLLI, 1992). Apesar disso, a técnica de indução hormonal reprodutiva é utilizada, e com sucesso, para facilitar o manejo reprodutivo dessa espécie (HARVEY e CAROLSFELD, 1993). Os ciprinídeos têm importância fundamental na aquicultura mundial, pois, dentre as 15 espécies mais produzidas, sete são ciprinídeos (ANNUAL REPORT ON THE UNITED STATES SEAFOOD INDUSTRY, 2000).

Em procedimento de avaliação de sêmen de mamíferos, a morfopatologia dos espermatozoides é considerada um parâmetro importante (VALE FILHO, 1980; BARTH e OKO, 1989; HERMAN *et al.*, 1994; HAFEZ e HAFEZ, 2000). Todavia, em peixes, os exames que abordam esse parâmetro restringem-se,

praticamente, a mudanças estruturais nos espermatozoides, após a criopreservação (YAO *et al.*, 2000; TADDEI *et al.*, 2001). Pesquisas relativas a técnicas práticas e simples para verificação de anormalidades em espermatozoides de peixes autóctones brasileiros são raras (KAVAMOTO *et al.*, 1999).

O objetivo deste trabalho foi estudar a ocorrência de anormalidades em espermatozoides, como parâmetro de qualidade do sêmen de *Leporinus macrocephalus*, *Prochilodus lineatus* e *Cyprinus carpio*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Estação de Piscicultura da Universidade Estadual de Maringá (UEM)/CODAPAR, no Laboratório de Reprodução da UEM, e em uma Piscicultura localizada no município de Apucarana (PR).

Foram selecionados 27 machos de carpa comum (*Cyprinus carpio*), 55 machos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) e 48 machos de curimatá (*Prochilodus lineatus*), cujas características reprodutivas secundárias estavam de acordo com o estabelecido por WOYNAROVICH e HORVÁTH (1983).

Para indução dos animais à reprodução utilizaram-se extrato de hipófise de carpa (EHC), de frango (EHF) e de coelho (EHCo), em aplicações únicas de 3,0; 5,0 e 7,0 mg de hipófise/kg de peso vivo de peixe, respectivamente. O procedimento de manipulação dos animais, preparo das soluções e aplicação do hormônio foi aquele descrito por WOYNAROVICH e HORVÁTH (1983).

A temperatura da água foi monitorada de hora em hora, após a indução dos animais, com termômetro de graduação Celsius, com o intuito de obter a unidade térmica acumulada (UTA). Estabeleceu-se 240 UTA como padrão para a coleta de sêmen de cada animal.

Para a colheita dos gametas, retirou-se o animal do aquário, o qual foi envolvido em toalha úmida e apoiado sobre espuma de densidade 30, na mesa de manipulação. Em seguida, o orifício urogenital e a nadadeira anal foram secos com papel-toalha, sendo o sêmen extrusado com massagem abdominal no sentido ântero-posterior e coletado, em *Cyprinus carpio*, com auxílio de vidro-relógio e transferido para seringas. Em *Prochilodus lineatus* e *Leporinus macrocephalus*, o sêmen foi coletado com seringa, diretamente no orifício urogenital. Após cada coleta, os animais foram devolvidos a seus respectivos tanques.

Para a análise morfológica dos espermatozoides, do sêmen de cada animal produziram-se dois esfregaços, após diluir-se o sêmen em formol-salino tamponado, na proporção de 1:2000 (sêmen/solução diluente) para carpas e curimatás e de 1:1000 para piavuços. Os esfregaços foram corados pelo método de Rosa Bengala e, depois de secos, analisados em microscópio de contraste de fase, em 40X. Para cada amostra de sêmen realizou-se a análise de 200 a 230 espermatozoides fixados, considerando-se as duas lâminas, os quais foram classificados em: espermatozoide "normal" ou espermatozoide "com anormalidade primária ou secundária".

Cada espécie foi manipulada independente uma da outra, e os três tratamentos foram arranjados em fatorial de três hormônios e três repetições (semana) por tratamento. Cada animal foi considerado uma unidade experimental.

O modelo proposto foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = m + H_i + S_j + HS_{ij} + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = observação referente ao macho (k), recebendo o hormônio (i) na semana (j);

m = constante geral;

H_i = efeito do hormônio;

S_j = efeito da semana;

HS_{ij} = interação entre o hormônio (i) e a semana;

e_{ijk} = erro aleatório associado à observação do animal (k) que recebeu o hormônio (i) na semana (j).

Na análise estatística aplicou-se o GENMOD, adotando a distribuição Gamma, utilizando-se o programa SAS (1992).

RESULTADOS

No sêmen de carpa comum, *Cyprinus carpio*, a ocorrência de anormalidades secundárias foi maior ($P < 0,05$) no tratamento com EHC_o (32,7%) em relação ao tratamento com EHC (23,6%), porém não diferiu ($P < 0,05$) em relação ao EHF (25,4%). Relativamente à ocorrência de espermatozoides normais (62,4; 64,2 e 53,3%) e espermatozoides com anormalidade primária (13,8; 10,3 e 15,2%), os valores não diferiram ($P < 0,05$) entre os tratamentos EHC, EHF e EHC_o (Tabela 1).

Tabela 1. Índice e desvio padrão de espermatozoides normais, espermatozoides com anormalidade secundária e espermatozoides com anormalidade primária, de carpa comum, *Cyprinus carpio*, induzida à reprodução com extrato de hipófise de carpa (EHC), frango (EHF) ou coelho (EHC_o)

VARIÁVEL	TRATAMENTO		
	EHC	EHF	EHC _o
Espermatozoides normais (%)	62,4 (10,7)a	64,2 (10,2)a	53,3 (22,6)a
Espermatozoides com anormalidade secundária (%)	23,6 (10,7)a	25,4 (10,7)ab	32,7 (17,2)b
Espermatozoides com anormalidade primária (%)	13,8 (7,0)a	10,3 (3,9)a	15,2 (13,2)a

ab = letras diferentes na mesma linha indicam diferenças: $P < 0,05$.

Em relação ao piavuçu, *Leporinus macrocephalus*, os índices de espermatozóides normais verificados foram 51%, quando tratado com EHF, e 46,5%, quando com EHC, valores esses, superiores ($P < 0,05$) ao verificado nos animais induzidos com EHCo, que foi de 31,2%. Para as anormalidades secundárias, o percentual de ocorrência foi superior ($P < 0,05$) nos animais induzidos com o EHCo (60,6%), quando comparado aos percentuais verificados nos animais induzidos com EHF (44,0%) ou EHC (36,5%). Já, para a ocorrência de

espermatozóides com anormalidade primária, os resultados foram semelhantes nos três tratamentos (Tabela 2).

Quanto ao curimbatá, *Prochilodus lineatus*, induzido à reprodução, verifica-se, pela análise dos resultados de cada tratamento (EHC, EHF e EHCo), constantes da tabela 3, que não houve diferença entre os índices de espermatozóides normais (59,8; 55,9 e 57,4%), o mesmo sendo verificado em relação aos índices daqueles com anormalidade secundária (25,9; 29,1 e 27,5%) ou primária (14,3; 15 e 15,1%).

Tabela 2. Índice e desvio padrão de espermatozóides normais, espermatozóides com anormalidade secundária e espermatozóides com anormalidade primária, de piavuçu, *Leporinus macrocephalus*, induzido à reprodução com extrato de hipófise de carpa (EHC), frango (EHF) ou coelho (EHCo).

VARIÁVEL	TRATAMENTO		
	EHC	EHF	EHCo
Espermatozóides normais (%)	51,0 (22,3)a	46,5 (20,4)a	31,2 (22,9)b
Espermatozóides com anormalidade secundária (%)	36,5 (21,8)b	44,0 (19,9)b	60,6 (25,3)a
Espermatozóides com anormalidade primária (%)	12,5 (3,8)a	9,5 (2,4)a	8,2 (4,7)a

ab = letras diferentes na mesma linha indicam diferenças: $P < 0,05$.

Tabela 3. Índice e desvio padrão de espermatozóides normais, espermatozóides com anormalidade secundária e espermatozóides com anormalidade primária, de curimbatá, *Prochilodus lineatus*, induzido à reprodução com extrato de hipófise de carpa (EHC), frango (EHF) ou coelho (EHCo)

VARIÁVEL	TRATAMENTO		
	EHC	EHF	EHCo
Espermatozóides normais (%)	59,8 (13,5)	55,9 (14,6)	57,4 (17,8)
Espermatozóides com anormalidade secundária (%)	25,9 (11,9)	29,1 (12)	27,5 (16,6)
Espermatozóides com anormalidade primária (%)	14,3 (6,6)	15,0 (5,4)	15,1 (4,8)

Relativamente a cada tipo de anormalidade encontrada em espermatozóides de carpa comum (*Cyprinus carpio*) induzida com EHC, EHF e EHCo, verifica-se, através da figura 1, que suas ocorrências são semelhantes nos diferentes tratamentos, e que as anormalidades, como cauda solta e cabeça solta, foram as mais frequentes, não existindo registro de ocorrência das anormalidades cauda quebrada junto à cabeça, gotas citoplasmáticas distais e gotas citoplasmáticas proximais.

Quanto às anormalidades apresentadas por espermatozóides de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) induzido à reprodução com EHC, EHF e EHCo, aquela de maior incidência foi cabeça solta, especialmente nos animais induzidos com EHCo (acima de 50%). A anormalidade cauda solta apresentou índice acima de 15% nos três tratamentos. Nesta espécie não foi registrada ocorrência de microcefalia, gota citoplasmática proximal, gota citoplasmática distal e cauda bifurcada (Figura 2).

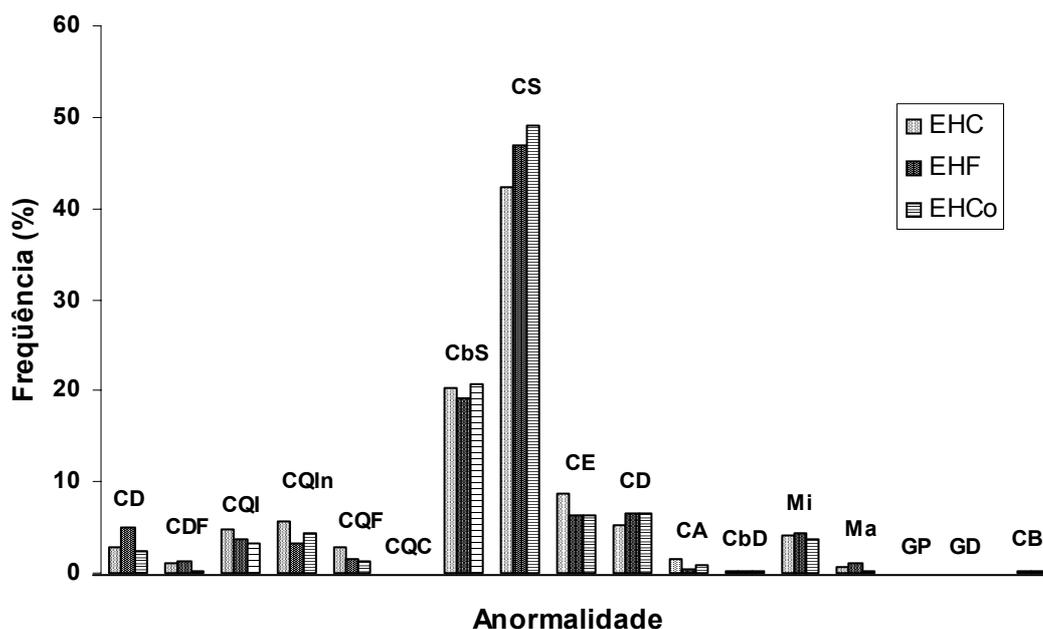


Figura 1. Frequência, em porcentual, de anormalidades encontradas em espermatozoides de carpa comum (*Cyprinus carpio*) induzida à reprodução com extrato de hipófise de carpa (EHC), frango (EHF) ou coelho (EHCo) - cauda dobrada (CD), cauda dobrada parte final (CDF), cauda quebrada parte inicial (CQI), cauda quebrada parte intermediária (CQIn), cauda quebrada parte final (CQF), cauda quebrada junto à cabeça (CQC), cabeça solta (CbS), cauda solta (CS), cauda enrolada (CE), cauda degenerada (CD), cauda abaxial (CA), cabeça degenerada (CbD), microcefalia (Mi), macrocefalia (Ma), gota citoplasmática proximal (GP), gota citoplasmática distal (GD), cauda bifurcada (CB)

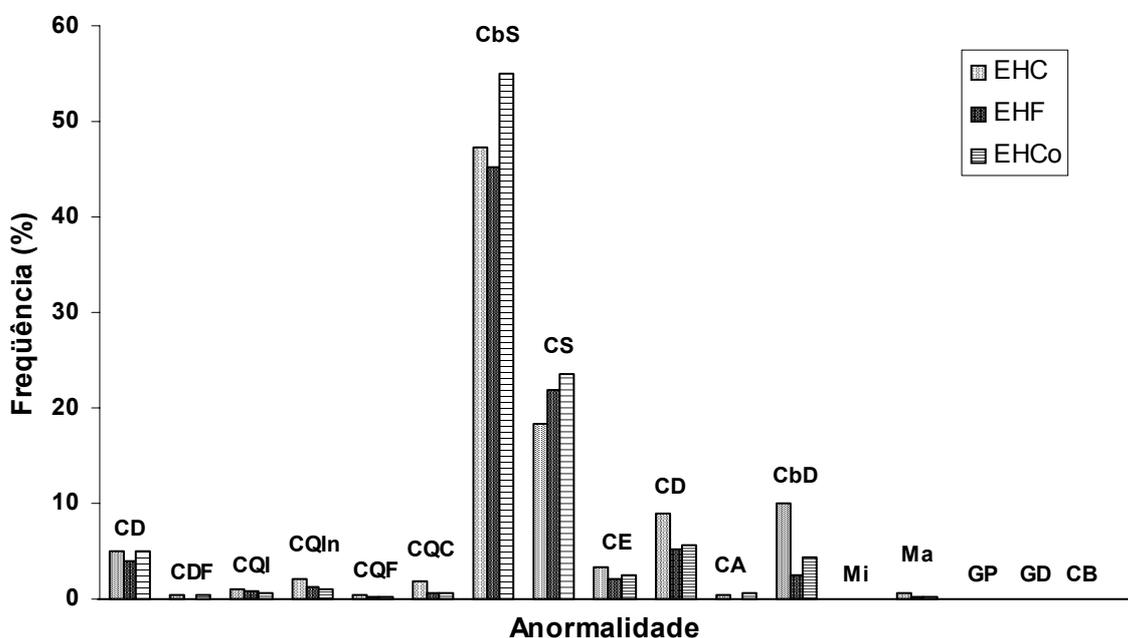


Figura 2. Frequência, em porcentual, de anormalidades encontradas em espermatozoides de piavaçu (*Leporinus macrocephalus*) induzido à reprodução com extrato de hipófise de carpa (EHC), frango (EHF) ou coelho (EHCo) - cauda dobrada (CD), cauda dobrada parte final (CDF), cauda quebrada parte inicial (CQI), cauda quebrada parte intermediária (CQIn); cauda quebrada parte final (CQF), cauda quebrada junto à cabeça (CQC), cabeça solta (CbS), cauda solta (CS), cauda enrolada (CE), cauda degenerada (CD), cauda abaxial (CA), cabeça degenerada (CbD), microcefalia (Mi), macrocefalia (Ma), gota citoplasmática proximal (GP), gota citoplasmática distal (GD), cauda bifurcada (CB)

Considerando-se as anormalidades apresentadas por espermatozoides de curimatá (*Prochilodus lineatus*) induzido à reprodução, verifica-se, pela figura 3, que houve uma distribuição mais homogênea de suas frequências. Assim, quando avaliado o índice de ocorrência da anormalidade cabeça solta, constata-se que seu valor se encontra ao redor de 28%, nos três tratamentos, sendo essa, a anormalidade mais

freqüente. A anormalidade cauda solta foi a segunda mais freqüente com os três indutores: 18% aproximadamente. Cauda dobrada, cauda enrolada, cauda degenerada e cabeça degenerada apresentaram índices de ocorrência em torno de 9%. Não foi registrada a presença de espermatozoides tanto com gota citoplasmática distal, quanto daqueles com cauda bifurcada.

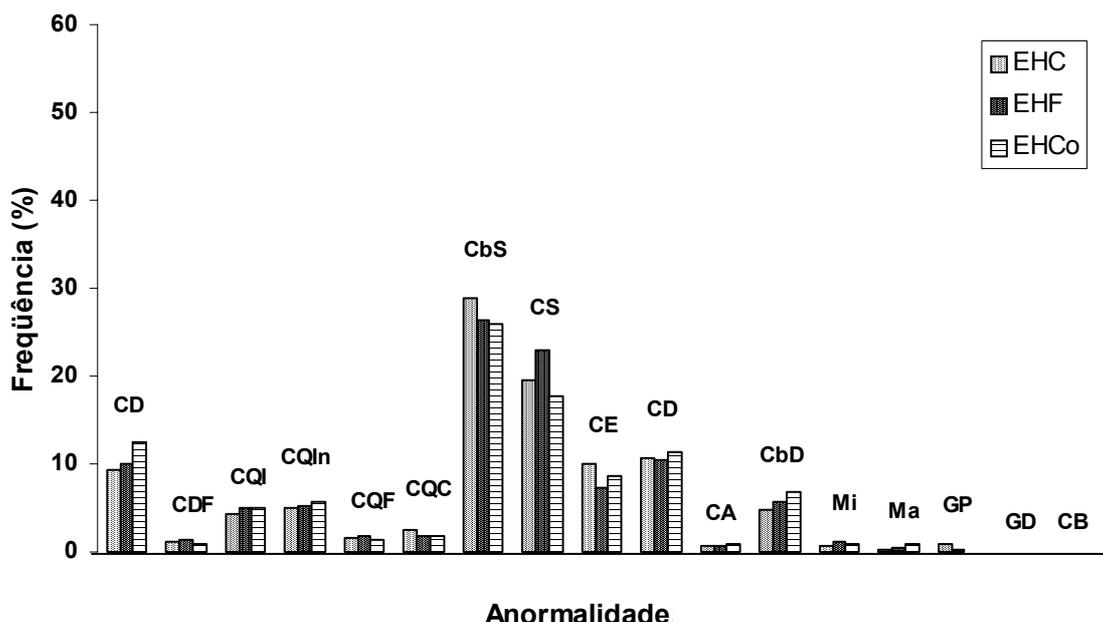


Figura 3. Frequência, em porcentual, de anormalidades encontradas em espermatozoides de curimatá (*Prochilodus lineatus*) induzido à reprodução com extrato de hipófise de carpa (EHC), frango (EHF) ou coelho (EHCo) - cauda dobrada (CD), cauda dobrada parte final (CDF), cauda quebrada parte inicial (CQI), cauda quebrada parte intermediária (CQIn), cauda quebrada parte final (CQF); cauda quebrada junto a cabeça (CQC); cabeça solta (CbS); cauda solta (CS); cauda enrolada (CE); cauda degenerada (CD); cauda abaxial (CA); cabeça degenerada (CbD); microcefalia (Mi); macrocefalia (Ma); gota citoplasmática proximal (GP), gota citoplasmática distal (GD); cauda bifurcada (CB).

DISCUSSÃO

Análises de anormalidades estruturais em espermatozoides de peixes ainda não são utilizadas rotineiramente em trabalhos com sêmen de peixe, porém alguns estudos já foram realizados, como os de KAVAMOTO *et al.* (1999), MANSOUR *et al.* (2002), YAO *et al.* (2000) e TADDEI *et al.* (2001).

No presente trabalho, os índices de anormalidades primárias e secundárias, encontrados em espermatozoides de carpa comum (*Cyprinus carpio*), piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) e curimatá (*Prochilodus lineatus*), utilizando-se os três indutores à reprodução, EHC, EHF e EHCo, mostram-se elevados. O COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO

ANIMAL (1998) recomenda não utilizar, na inseminação artificial ou monta natural de mamíferos, sêmen com índices de espermatozoides com anormalidade acima de 30%, em bovinos e eqüinos, e de 20%, em ovinos e suínos. Neste trabalho, os índices de espermatozoides com anormalidade registrados em piavuçu atingiram valores em torno de 70%, com a utilização de EHCo. Este valor pode ser julgado elevado, se comparado aos considerados aceitáveis para mamíferos, porém, em peixes, essas referências ainda não foram estabelecidas.

Para KAVAMOTO *et al.* (1999), o valor médio dos índices de espermatozoides com anormalidade secundária ou primária foi 9,54%, porém, nesse caso,

analisaram espermatozóides de curimatá (*Prochilodus lineatus*) induzido à reprodução com gonadotrofina coriônica humana (hCG). De certo modo, parece razoável acreditar que o aumento do valor da soma dos índices de anormalidades secundárias e primárias possa estar relacionado com o tipo de indutor, pois, no presente experimento, quando piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) foi induzido com EHCou houve aumento do referido índice em cerca de 40%, com relação ao EHC, e de 30%, quando se considera o EHF. Já, na carpa comum, *Cyprinus carpio*, quando induzida à reprodução com EHCou, o valor da soma desses índices de anormalidades secundárias e primárias foi aproximadamente 35% mais alto que o verificado nos animais induzidos com EHC e 30% superior ao registrado naqueles induzidos com EHF. Todavia, no curimatá induzido com EHCou, o valor da soma dos índices de anormalidades primárias e secundárias foi apenas 5% superior ao dos animais induzidos com EHC e 5% inferior ao dos induzidos com EHF.

Dentre os fatores que determinam a qualidade dos gametas dos peixes pode-se incluir a normalidade dos espermatozóides e o hormônio utilizado na indução reprodutiva artificial, embora este último não seja mencionado pelos autores DONALDSON *et al.* (2000), os quais, todavia, comentam que o manejo reprodutivo artificial é um fator estressante, que pode influir na espermiogênese. Para BROMAGE (1995), dentre outros fatores, a qualidade da alimentação dos reprodutores, as condições ambientais, o estresse causado na captura, a manipulação no tanque de indução, as características genéticas, as condições de incubação e o estágio de maturação podem influenciar os índices reprodutivos.

O perfil da distribuição das frequências de anormalidades de espermatozóides foi relativamente semelhante entre as três espécies estudadas, ao serem induzidas à reprodução com EHC, EHF ou EHCou. Porém, na carpa comum, *Cyprinus carpio*, a anormalidade encontrada com frequência mais elevada foi cauda solta, nos três tratamentos utilizados para a indução reprodutiva. Para as outras duas espécies, as anormalidades mais frequentes foram cabeça solta e cauda solta, ambas consideradas secundárias. Quando KAVAMOTO *et al.* (1999) induziram curimatá, *Prochilodus lineatus*, com hCG, as anormalidades mais frequentes foram cauda dobrada, cauda enrolada e cauda solta. Em

mamíferos, as anormalidades primárias cauda enrolada e cauda quebrada estão relacionadas a falhas durante a espermatogênese, enquanto as anormalidades secundárias, como cauda dobrada, cabeça solta e cauda solta, surgem durante a passagem do sêmen pelo epidídimo (HERMAN *et al.*, 1994; HAFEZ e HAFEZ, 2000).

Estes porcentuais elevados de anormalidades secundárias, como cauda solta e cabeça solta, podem estar relacionados ao procedimento de preparação de lâminas de esfregaços ou, mesmo, de coletar o sêmen. Ao analisar aspectos morfológicos de espermatozóides de bubalinos, AGUIAR *et al.* (1996) atribuíram a maior ocorrência de cabeça solta de espermatozóide à técnica de preparação de esfregaços. Em bovinos, o aumento da proporção de espermatozóides sem cabeça pode estar associado com degeneração testicular, inflamações em estruturas dos testículos, doenças ou condições experimentais (BARTH e OKO, 1989).

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, não se verificou influência tanto do extrato de hipófise de carpa, quanto de frango ou de coelho sobre as características morfológicas dos espermatozóides de carpa comum (*Cyprinus carpio*) e curimatá (*Prochilodus lineatus*) induzidos à reprodução. Contudo, em relação ao piavuçu (*Leporinus macrocephalus*), observou-se que a ocorrência de espermatozóides com anormalidade primária foi mais elevada nos peixes induzidos com extrato de hipófise de coelho, o que torna este procedimento o menos indicado para indução da reprodução de machos dessa espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, P.H.P.; ANDRADE, V.J.; ABREU, J.J.; GOMES, N.B.N. 1996 Aspectos físicos e morfológicos e pH do sêmen de reprodutores bubalinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, 48(3): 325-331.
- ANNUAL REPORT ON THE UNITED STATES SEAFOOD INDUSTRY - ARRUSI 2000 *Report*. [S.l.: s.n.], 2000. Disponível em: <<http://www.wordcatch.com>> Acesso em: 2002.
- BARTH, A.D. e OKO, R.J. 1989 *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. Ames: Iowa State University Press. 285p.

- BRITSKI, H.A. 1999 *Peixes do Pantanal. Manual de identificação*. Brasília: Embrapa - SPI. 184p.
- BROMAGE, N. 1995 Broodstock management and seed quality-General considerations. In: BROMAGE, N. e ROBERTS, R.J. (Ed.). *Broodstock management and egg larval quality*. Oxford: Blackwell Science. p.1-24.
- CASTAGNOLLI, N. 1992 Espécies exóticas próprias para a piscicultura. In: _____. *Piscicultura de água doce*. Jaboticabal: FUNEP. p.71-96.
- CECCARELLI, P.S.; SENHORINI, J.A.; VOLPATO, G.P. 2000 *Dicas em piscicultura; perguntas e respostas*. Botucatu: Santana Gráfica Editora. 247p.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL - CBRA 1998 *Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal*. 2. ed. Belo Horizonte: CBRA. 49p.
- DONALDSON, E.M.; SOLAR, I.I.; HARVEY, B. 2000 Induced ovulation and spermiation and factors influencing gamete quality of fishes. In: TIERSCH, T.R. e MAZIK, P.M. (Ed.). *Cryopreservation in aquatic species*. Baton Rouge: World Aquaculture Society. p.13-19.
- HAFEZ, E.S.E. e HAFEZ, B. 2000 *Reproduction in farm animals*. 7. ed. Philadelphia: Lippicott Williams e Wickins. 509p.
- HARVEY, B. e CAROLSFELD, J. 1993 *Induced breeding in tropical fish culture*. Ottawa: IDRC. 144p.
- HERMAN, H.A.; MITCHELL, J.R.; DOAK, G.A. 1994 *The artificial insemination and embryo transfer of dairy and beef cattle*. 8. ed. Illinois: Interstate Publishers Inc. 392p.
- KAVAMOTO, E.T.; BARNABE, V.H.; CAMPOS, B.E.S. de; ANDRADE-TALMELLI, E.F. de 1999 Anormalidades morfológicas nos espermatozoides do curimatá, *Prochilodus lineatus* (Steindachner, 1881) (Osteichthyes, Characiformes, Prochilodontidae). *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 25(único): 61-66.
- LIN, H. R. e PETER, R.E. 1991 Aquaculture. In: WINFELD, I.J. e NELSON, J.S. (Ed.). *Cyprinid Fishes. Systematics, biology and exploitation*. Suffolk: St. Edmundshury Press. p.603-622.
- MANSOUR, N.; LAHNSTEINER, F.; PATZNER, R.A. 2002 The spermatozoon of the African catfish: fine structure, motility, viability and its behavior in seminal vesicle secretion. *J. Fish Biol.*, 60(3): 545-560.
- SAS Institute Inc. 1992 *SAS technical report*. Release 6.07. Cary: NC. 229p.
- TADDEI, A.R.; BARBATO, F.; ABELLI, L.; CANESE, S.; MORETTI, F.; RANA, K.J.; FAUSTO, A.M.; MAZZINI, M. 2001 Is cryopreservation a homogeneous process? Ultrastructure and motility of untreated, prefreezing, and post-thawed spermatozoa of *Diplodus puntazzo* (Cetti). *Cryobiology*, 42(4): 244-255.
- VALE FILHO, V.R. 1980 *Patologia do sêmen*. 2. ed. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais - Escola de Veterinária. 54p.
- YAO, Z.; CRIM, L.W.; RICHARDSON, G.F.; EMERSON, C.J. 2000 Motility, fertility and ultrastructural changes of ocean pout (*Macrozoarces americanus* L.) sperm after cryopreservation. *Aquaculture*, 181(3): 361-375.
- WOYNAROVICH, E. e HORVÁTH, L. 1983 *A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão*. Brasília: Escopo. 220p.