

CARACTERÍSTICAS SEMINAIS DO CURIMBATÁ, *Prochilodus scrofa*,
STEINDACHNER, 1881.

(Seminal characteristics of curimatá, *Prochilodus scrofa*, Steindachner, 1881).

Emilio Tahir KAWAMOTO¹
Washington FOGLI DA SILVEIRA¹
Heloisa Maria GODINHO¹

RESUMO

O presente ensaio teve como objetivo estudar as características seminais e comparar métodos indiretos de avaliação do material fecundante de exemplares de curimatá, *Prochilodus scrofa*, capturados no Rio Mogi-Guaçu, durante os períodos reprodutivos de 1984 e 1985. A avaliação do sêmen e os valores obtidos, quando estimados pelo intervalo de confiança de 95% foram: motilidade subjetiva direta, 82,01 a 86,79%; porcentagem de espermatozoides vivos determinados pela coloração diferencial, 87,54 a 90,72%; concentração de espermatozoides, 32,50 a 35,38 x 10⁶/mm³. O coeficiente de correlação entre a concentração de espermatozoides por mm³ e o espermatoócrito, em mm resultou num valor de $r = 0,95^*$ e a equação de regressão foi $Y = -4347961 + 1157296 \cdot X$ onde Y representa a concentração dos espermatozoides em mm³ e X o espermatoócrito em milímetros. Relacionouse ainda a concentração de espermatozoides total e a concentração de espermatozoides vivos de 42 exemplares com o tempo de redução do azul de metileno, cujos coeficientes de correlação (r) foram $-0,43^*$ e $-0,65^*$, respectivamente.

ABSTRACT

The purpose of this paper was to study the seminal characteristics and indirect methods of evaluation of the sperm of curimatá, *Prochilodus scrofa*, caught at Mogi-Guaçu River, Pirassununga (São Paulo), during the reproductive season of 1984 and 1985. The seminal evaluation and the values obtained when estimated by confidence interval (95%) were: percentage of sperm motility 82,01% to 86,79%, percentage with live sperm by differential staining method 87,54 to 90,72%, sperm concentration 32,50 to 35,38 x 10⁶/mm³. The correlation coefficient between spermatozoa concentration and the spermatoocrit was found to be $r = 0,95^*$ and the regression equation was: $Y = -4347961 + 1157296 \cdot X$, where Y represent the spermatozoa concentration per mm³ and X the spermatoocrit per millimeter. The methylen-blue reduction test was related with total spermatozoa concentration and with the number of live spermatozoa for 42 fishes. The correlation coefficients (r) obtained were $-0,43^*$ and $-0,65^*$ respectively and were statistically significant ($P < 0,05$).

1. INTRODUÇÃO

O curimatá, *Prochilodus scrofa*, pertencente a família Prochilodontidae, com ampla distribuição na região Sudeste do Brasil (FOWLER, 1951), é peixe de consumo significativo, principalmente no interior do Estado de São Paulo.

Segundo GODOY (1975), na época da elevação do nível do Rio Mogi-Guaçu, o curimatá apresenta migração reprodutiva ascendente no período que vai de novembro a fevereiro. Atualmente, o comportamento reprodutivo dessa espécie está bastante prejudicado pela poluição dos rios e pelas usinas hidrelétricas que limitam a migração reprodutiva com a consequente redução dos estoques existentes.

Com o objetivo de fornecer subsídios às pesquisas relativas a reprodução induzida e à crio-preservação do material fecundante, por tempo indeterminado, visando o incremento da piscicultura num sistema intensivo, torna-se imprescindível o desenvolvimento e o aprimoramento de métodos de avaliação, capazes de estabelecer as características físicas e químicas do sêmen de peixes economicamente indicados para o cultivo.

No sentido de verificar a viabilidade das células espermáticas, têm sido utilizados métodos diretos de avaliação do sêmen de peixes através de exames microscópicos que revelam a qualidade e a quantidade dos

(1) Pesquisadores Científicos – Seção de Biologia Aquática – Divisão de Pesca Interior – Instituto de Pesca.
Aprovado para publicação em 15-8-86.

espermatozoides. Nesse sentido, FRI-BOURGH (1966) trabalhou com o "gold-fish", *Carrasius auratus*, KAVAMOTO et alii (1985) com a truta arco-íris, *Salmo irideus* Gibbons e KAVAMOTO & FOGLI DA SILVEIRA (1986), com o bagre, *Rhamdia hilarii*.

Os métodos indiretos de avaliação, como o espermátocrito e a redutaseometria, foram introduzidos como testes auxiliares na avaliação do sêmen das espécies ictíicas.

Uma correlação linear entre o espermátocrito e a concentração de espermato-

zoides foi obtida por MONTALEMBERT; MARCEL; BILLARD (1980) para "brochet", *Esox lucius*, por FOGLI DA SILVEIRA et alii (1985) para truta arco-íris, *Salmo irideus* e por KAVAMOTO & FOGLI DA SILVEIRA (1986) para bagre, *Rhamdia hilarii*.

FOGLI DA SILVEIRA et alii (1986) utilizaram na truta arco-íris, *Salmo irideus*, a redutaseometria que revelou uma relação significativa, embora de baixa intensidade, entre a concentração de espermatozoides total e a de espermatozoides vivos e o tempo de redução do azul de metileno.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Nos períodos reprodutivos de 1984 e 1985 foi coletado sêmen de 50 exemplares de curimatá, *Prochilodus scrofa*, capturados no Rio Mogi-Guaçu, em trechos próximos à Cachoeira de Emas, Município de Pirassununga, SP. Para tanto, os peixes foram transportados vivos para o "Laboratório de Biologia de Peixes Fluviais do Instituto de Pesca em Pirassununga", colocados em caixas de cimento amianto de 1 m³, em água de mesma temperatura daquela do rio e aeração constante.

De cada exemplar foram anotados dados de comprimento total em centímetros e peso total em gramas.

Através de massagens no abdômen dos exemplares, o sêmen foi coletado no poro urogenital, devidamente secado e limpo, e colocado em tubos de vidro que foram depositados em recipientes com água de mesma temperatura daquela dos tanques, para evitar choque térmico.

De cada amostra coletada, foram verificadas as características seminais utilizando os métodos diretos e indiretos de avaliação espermática como segue:

1. Motilidade direta subjetiva, realizada sob microscopia de contraste de fase (400 x), seguindo o processo da escala arbitrária de SALISBURY & VANDEMARK (1964).

2. Coloração diferencial: espermatozoides vivos e mortos contados em esfregãos de sêmen corados pelo método de BLOM (1950).

3. Concentração de espermatozoides por mm³, determinada por contagem em câmara hematómica de Neubauer, "Improved".

4. Concentração espermática em n/m (espermátocrito) obtida pela centrifugação do sêmen em tubos capilares de micro-hematócrito segundo FOGLI DA SILVEIRA et alii (1985).

5. Prova de redução de azul de metileno (redutaseometria), segundo os procedimentos citados por FOGLI DA SILVEIRA et alii (1985).

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

Para comparar as porcentagens da motilidade espermática e a de espermatozoides vivos obtidos pela coloração diferencial, foi empregado o teste de qui-quadrado (χ^2) ao nível de 5% de significância (GOLDSTEIN, 1965).

Para testar a relação entre o número de espermatozoides por milímetro cúbico e o espermátocrito medido em milímetros, foi calculada a regressão aritmética entre estas variáveis no sentido de verificar se o coeficiente de correlação (r) diferia significativamente de 0 ($p < 0,05$), SNEDECOR & COCHRAN (1971).

No sentido de testar a relação entre a contagem espermática total por mm³, assim como o número de espermatozoides vivos por mm³, calculados pelo percentual da motilidade direta subjetiva e o tempo de re-

dução do azul de metileno, foi calculada a regressão aritmética entre as variáveis citadas de 42 amostras, com o intuito de verifi-

car se o coeficiente de correlação (r) diferia ou não significativamente de 0 ($P < 0,05$) (SNEDECOR & COCHRAN, 1971).

3. RESULTADOS

Os 50 exemplares utilizados neste trabalho apresentaram comprimento total entre 31,99 e 36,59 com a média de 34,29 centímetros e peso total entre 437,23 e 738,97 com a média de 588,10 gramas.

A temperatura média da água das caixas foi mantida em 23,8°C, próxima àquela do rio.

A TABELA 1 apresenta os valores individuais da motilidade, da coloração dife-

rencial (% de vivos), da concentração de espermatozoides, suas respectivas médias, desvios-padrão, coeficientes de variação e limites de confiança.

Ainda nesta tabela podem-se observar os valores do teste de qui-quadrado ($\chi^2 = 0,12$) aplicado para averiguar a diferença entre a avaliação da motilidade direta subjetiva e espermatozoides vivos obtidos pela coloração diferencial, demonstrando não haver diferença significativa ao nível de 5%.

TABELA 1
Características seminais do curimbatá, *Prochilodus scrofa* - Pirassununga - 1984/1985

Nº do Peixe	Motilidade (%)	Coloração diferencial (% vivos)	Nº de espermatozoides por mm ³ (1)	Coleta nº	Motilidade (%)	Coloração diferencial (% vivos)	Nº de espermatozoides por mm ³ (1)
01	85	90,76	31,50	30	80	90,45	46,18
02	80	90,85	30,65	31	85	94,01	38,85
03	85	92,14	30,98	32	95	89,47	42,30
04	85	92,92	26,98	33	95	78,02	36,50
05	85	89,32	27,88	34	95	88,81	38,50
06	80	87,78	25,45	35	95	98,18	36,55
07	60	74,36	26,20	36	95	98,86	34,90
08	80	84,24	26,50	37	95	98,77	31,90
09	80	92,77	27,07	38	90	96,35	30,35
10	80	88,96	30,98	39	90	93,80	35,15
11	80	87,90	31,72	40	90	93,15	31,25
12	85	91,85	30,92	41	90	92,79	29,92
13	80	77,35	29,80	42	80	90,23	39,12
14	70	78,37	30,55	43	70	89,27	40,20
15	70	81,96	29,30	44	70	82,90	36,40
16	80	85,50	26,90	45	80	82,91	32,08
17	80	87,71	27,35	46	80	93,42	35,05
18	80	87,24	27,35	47	70	89,23	36,58
19	85	83,19	31,98	48	80	90,29	34,90
20	80	85,78	27,65	49	90	90,05	33,60
21	95	95,83	43,92	50	90	89,11	38,85
22	90	87,47	36,02	$\bar{X} = 84,40$ $s = 8,31$ $CV = 9,85$ $LC = 82,01-106,79$ $\chi^2 = 0,12$ $\chi^2_{5\%} = 3,84 (1 G.L.)$			
23	90	90,02	45,85				
24	95	92,81	38,05				
25	90	90,56	45,35				
26	85	95,61	46,92				
27	95	79,22	39,15	$\bar{X} = 89,13$ $s = 5,51$ $CV = 6,23$ $LC = 87,54-100,72$ $\chi^2 = 0,12$ $\chi^2_{5\%} = 3,84 (1 G.L.)$			
28	90	90,95	43,15				
29	95	92,39	34,25				

$\bar{X}$ = média aritmética

s = desvio padrão

CV = coeficiente de variação de Pearson

LC = limite de confiança, utilizando a distribuição "t" de Student para 95% de confiança.

(1) os valores devem ser multiplicados por 10⁶.

As leituras do espermatoócrito oscilaram de 24 a 44 mm com a média de 33,30 mm, enquanto que as correspondentes contagens de espermatozoides em câmara hematómica de Neubauer variaram de $25,45 \times 10^6$ a $46,92 \times 10^6$ com a média de $34,19 \times 10^6$ espermatozoides por mm^3 . O coeficiente de correlação linear ($r = 0,95^*$), obtido da relação entre o número de espermatozoides em mm^3 e o espermatoócrito em mm, revelou ser significativo ($P < 0,05$) e a reta obtida está definida pela equação $y = -4347961 + 1157296 \cdot x$, FIGURA 1.

Os resultados da motilidade espermática direta subjetiva e tempo de redução do azul de metileno, assim como a concentração de espermatozoides e número de espermatozoides vivos de 42 amostras de sêmen encontram-se na TABELA 2.

Pelo cálculo do coeficiente de correlação de Pearson foram avaliadas as relações

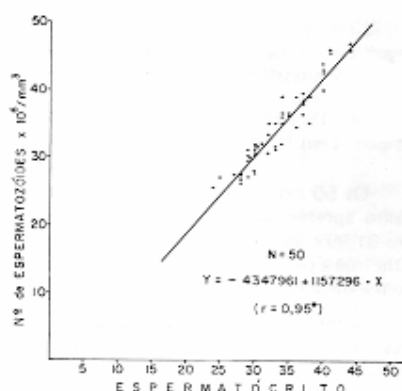


FIGURA 1 - Relação entre o espermatoócrito em milímetros (X) e o número de espermatozoides por mm^3 (Y) do curimatã, *Prochilodus scrofa*, Pirassununga 1984/85.

TABELA 2
Características seminais e tempo de redução do azul de metileno de 42 curimatãs, *Prochilodus scrofa*
Pirassununga - 1984/1985

nº do peixe	motilidade espermática %	Tempo de Redução		nº total de espermatozoides por mm ³ (1)	nº de espermatozoides vivos/ mm ³ (1)	nº do peixe	motilidade espermática %	Tempo de Redução		nº total de espermatozoides por mm ³ (1)	nº de espermatozoides vivos/ mm ³ (1)
		segundos	min/seg					segundos	min/seg		
01	95	65	1 05	38,05	36,15	23	80	150	2 30	27,65	22,12
02	95	65	1 05	43,92	41,72	24	85	160	2 40	30,92	26,28
03	95	80	1 20	36,55	34,72	25	80	170	2 50	25,45	20,36
04	90	89	1 29	29,92	26,93	26	80	175	2 55	27,35	21,88
05	90	100	1 40	31,25	28,13	27	80	180	3 00	30,98	24,78
06	95	105	1 45	31,90	30,30	28	85	180	3 00	46,92	39,88
07	90	105	1 45	45,35	40,82	29	90	180	3 00	43,15	38,84
08	90	120	2 00	36,02	32,42	30	80	180	3 00	46,18	36,94
09	90	120	2 00	45,85	41,27	31	85	180	3 00	38,85	33,02
10	95	120	2 00	39,15	37,19	32	80	185	3 05	31,72	25,38
11	95	120	2 00	34,25	32,54	33	80	185	3 05	29,80	23,84
12	95	120	2 00	42,30	40,18	34	80	190	3 10	30,65	24,52
13	95	120	2 00	36,50	34,68	35	85	190	3 10	29,98	22,93
14	95	120	2 00	38,50	36,58	36	85	200	3 20	31,50	26,78
15	95	120	2 00	34,90	33,16	37	80	200	3 20	26,50	21,20
16	90	120	2 00	38,85	34,96	38	80	205	3 25	26,90	21,52
17	90	125	2 05	35,15	31,64	39	80	220	3 40	27,07	21,66
18	90	128	2 08	30,35	27,32	40	70	250	4 10	30,55	21,39
19	85	130	2 10	31,98	27,18	41	70	260	4 20	29,30	20,51
20	80	140	2 20	27,35	21,88	42	60	270	4 30	26,20	15,72
21	85	145	2 25	27,98	23,70						
22	85	150	2 30	30,98	26,33						
(1) Os valores devem ser multiplicados por 10 ⁶						X = 85,61		152 ⇒ 2 32		30,59	29,27
						s = 8,00		49,32 ⇒ 0 83		6,09	7,10
						CV% = 9,34		32,45 ⇒ 32 45		19,88	24,26

entre a concentração total de espermatozoides por mm^3 (y_1), a concentração de espermatozoides vivos por mm^3 (y_2) e o tempo de redução do azul de metileno (X). Obteve-se para o primeiro cálculo um valor de $r = -0,43^*$ e para o segundo, $r = -0,65^*$, estatisticamente significativo ($P < 0,05$).

Determinaram-se também as equações de regressão de y em X , isto é, número de espermatozoides total e vivos em função do tempo de redução.

Para a primeira relação a equação é:

$$y_1 = 42271887 - 55142 \cdot X$$

e para a segunda:

$$y_2 = 43462969 - 92893 \cdot X$$

Estas equações permitem, com base no valor do tempo de redução do azul de metileno (X), a obtenção do valor do número de espermatozoides total por mm^3 (y_1) e o número de espermatozoides vivos por mm^3 (y_2).

4. DISCUSSÃO

GODOY (1975) comenta que os machos de *Prochilodus scrofa* iniciam a reprodução a partir do segundo ano de vida, com comprimento total entre 22 e 23 centímetros e peso entre 110 e 130 gramas. Neste experimento, todos os exemplares apresentaram comprimento e peso superiores a 26,5 centímetros e a 200 gramas, respectivamente.

Os resultados da motilidade espermática direta subjetiva, à temperatura média de $23,8^\circ\text{C}$, variaram entre 82,00% e 86,80% pelo intervalo de confiança de 95% com média de 84,40% (TABELA 1). Estão próximos desses limites os resultados das pesquisas realizadas por FRIBOURGH (1966), com "goldfish", *Carassius auratus*, onde observou que mais de 80% dos espermatozoides apresentavam motilidade ativa, embora mantidos a uma temperatura de 15°C , estando dentro daqueles limites os resultados de KAVAMOTO & FOGLI DA SILVEIRA (1986), que obtiveram para o bagre, *Rhamdia hilarii*, a média de 81,90%. Diferem, por outro lado, dos valores de 55,86% a 72,94% apontados por KAVAMOTO et alii (1985), na truta arco-íris, *Salmo irideus*, mantidos numa temperatura média de 13°C .

A coloração diferencial dos espermatozoides do curimatá apresentou limites de 87,54% a 90,72% com a média de 89,13% de células espermáticas não coradas (vivas). Estão fora desses limites os valores obtidos por FRIBOURGH (1966), de 77,01% de células espermáticas vivas no "goldfish", *Carassius auratus*, e por KAVAMOTO & FOGLI DA SILVEIRA (1986) que encon-

traram no sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii*, a média de 86,73% de espermatozoides vivos. Diferem, ainda, dos limites de 54,13 a 75,75% de espermatozoides não corados descritos por KAVAMOTO et alii (1985) na truta arco-íris, *Salmo irideus*.

Pelo teste de qui-quadrado (χ^2), não houve diferença estatística significativa ao nível de 5% de probabilidade entre a avaliação direta subjetiva da motilidade espermática e a avaliação objetiva descrita pelo método de BLOM (1950), concordando com (KAVAMOTO & FOGLI DA SILVEIRA, 1986) e KAVAMOTO et alii (1985), que analisaram, respectivamente, o sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* e o da truta arco-íris, *Salmo irideus*.

A concentração média de espermatozoides obtida foi $34,19 \text{ células} \times 10^6 \text{ por } \text{mm}^3$, inferior, portanto, a encontrada no sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii*, com $63,53 \text{ espermatozoides} \times 10^6 \text{ por } \text{mm}^3$ (KAVAMOTO & FOGLI DA SILVEIRA, 1986) e bem superior aos valores encontrados no material espermático da truta arco-íris, *Salmo irideus* que variaram de 15,07 a 20,99, (KAVAMOTO et alii, 1985).

Quanto aos métodos indiretos de avaliação para a espécie considerada neste estudo temos que o coeficiente de correlação linear ($r = 0,95^*$) obtido da relação entre o número de espermatozoides em mm^3 (y) e o espermátocrito em mm (X), revelou-se estatisticamente significativo ($P < 0,05$), próximo do resultado conseguido por MONTALEMBERT; MARCEL; BILLARD (1980), que encontraram para "brochet" *Esox lucius*, um valor de $r = 0,98^*$. Diferem,

porém, dos valores $r = 0,85^*$ e $r = 0,75^*$, respectivamente, encontrados por FOGLI DA SILVEIRA et alii (1985), para o sêmen da truta arco-íris e por KAVAMOTO & FOGLI DA SILVEIRA (1986) para o sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii*.

O teste de redutase metria foi em média 152 segundos (2 min., 32 seg.), resultado que difere do obtido por FOGLI DA SILVEIRA et alii (1986), que obtiveram a média de 645 segundos (10 min., 45 seg.), para o sêmen da truta arco-íris, *Salmo irideus*.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitiram concluir:

1. Através dos exames realizados em cinquenta exemplares de curimatã, *Prochilodus scrofa*, coletados no Rio Mogi-Guaçu durante os períodos reprodutivos de 1984 e 1985, foi possível estabelecer as características seminais qualitativas.

2. O espermatoócrito pode ser empregado como método rotineiro na avaliação da concentração espermática do sêmen do curimatã, *Prochilodus scrofa*.

3. A prova de redução do azul de metileno presta-se como método auxiliar para

a avaliação do sêmen da espécie considerada, desde que realizado em conjunto com o exame microscópico.

4. As diferenças encontradas entre os resultados obtidos para a espécie estudada em relação a outras citadas no trabalho, devem-se talvez ao caráter específico de cada uma, sua posição taxonômica, idade e a fatores ambientais, devendo-se, portanto, desenvolver estudos durante todo o ciclo de vida de cada espécie e, particularmente, em indivíduos adultos de idade conhecida, para melhor selecionar bons reprodutores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLOM, Erick. 1950 A one-minute live-dead sperm stain by means of Eosin-nigrosin. *Fertility and Sterility*, New York, 1(2): 176-7.
- BROCHART, M. 1948 Contrôle du sperme de Taureau par le test au bleu de méthylène suivant la technique en tube capillaire. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 72(4): 64-75.
- CRESPO, GARCIA, J., ALONSO, A. S. 1985 Valor de la redutase metria y de la determinación de la vitamina C, como pruebas de contrastación del bovino y ovino. *Rev. Patronato Biol. Animal*, Madrid 4 (2): 131-63.
- FOGLI DA SILVEIRA et alii 1985 O espermatoócrito para avaliar a concentração de espermatozoides da truta arco-íris, *Salmo irideus* Gibbons. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 12(3): 105-8.
- FOGLI DA SILVEIRA et alii 1986 O azul de metileno como indicador da qualidade do sêmen da truta arco-íris, *Salmo irideus* Gibbons. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 13(1):
- FOWLER, H. W. 1954 Os peixes de água doce do Brasil. *Arq. Zool. Est. São Paulo*.
- FRIBOURGH, J. N. 1966 The application of differential staining method to low-temperature studies on goldfish spermatozoa. *The progressive fish-culturist*, 28(4): 227-31.
- GODOY, M. P. de 1975 *Peixes do Brasil*: sub-ordem Characoides Barba do Rio Mogi-Guaçu Piracicaba, *Franciscana*, IV 687-696.
- GOLDSTEIN, A. 1965 *Bioestates*: An introductory text, 2 ed. New York, Mac Millan, 272p.
- KAVAMOTO, E. T. et alii 1985 Avaliação macro e microscópica do sêmen da truta arco-íris, *Salmo irideus* Gibbons. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 12(3): 73-81, out.
- KAVAMOTO, E. T. & FOGLI DA SILVEIRA 1986 Características físicas, químicas e microscópicas do sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1940) em condições de campo. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 13(1):
- MONTAUBERT, G.; MARCEL, J.; BILLARD, R. 1980 La spermiation chez le brochet. I - Evolution de la quantité de sperm récolté au cours de la saison de reproduction. *Bull. Fr. Pisc.*, Paris, 50(276): 89-103, jan-mar.
- SALISBURY, G. W. & VANDEMARK, N. L. 1954 *Fisiologia de la reproducción e inseminación artificial de los boidos*. Trad. D. José María Santiago Laque. Zaragoza ACRIBIA. 707p. Original inglés.
- SNEDCOR, G. W. & COCHRAN, W. G. 1971 *Statistical methods*, 6ª ed. Ames, Iowa Sta. Univ. 593p.