

DESEMPENHO REPRODUTIVO DO PACU, PIRACANJUBA E CURIMBA INDUZIDOS COM EXTRATO DE BUSERELINA*

Michelle Sampaio PAULINO¹; Aléssio Batista MILIORINI¹; Luis David Solis MURGAS²; Fernando Souza Mendonça de LIMA³; Viviane de Oliveira FELIZARDO⁴

RESUMO

Os análogos do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH_a), como a buserelina, apresentam vantagens em relação às gonadotrofinas. Considerando-se a ausência de informações a respeito do desempenho reprodutivo de espécies reofílicas induzidas com tais hormônios, este trabalho objetivou avaliar o desempenho de reprodutores de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), piracanjuba (*Brycon orbygnianus*) e curimba (*Prochilodus lineatus*), submetidos ao tratamento com extrato de buserelina (EB). Apenas nas fêmeas foi aplicada uma dose prévia de 0,125 mL kg⁻¹ de peixe. Doze horas após, machos e fêmeas receberam uma dose de 0,25 mL de EB kg⁻¹, seguida de outra dose de 0,75 mL de EB kg⁻¹ após 12 horas. Somente os machos de curimba e piracanjuba espermiaram, apresentando motilidade espermática média superior a 90% e acima de 23 minutos de duração, com porcentual de anormalidades espermáticas inferior a 9%. As fêmeas de pacu, piracanjuba e curimba desovaram, em média, 7,7, 5,2 e 7,8 horas, respectivamente, após a última dosagem hormonal, embora somente as fêmeas de curimba tenham apresentado taxas de fertilização acima de 35%. Apesar disso, outras pesquisas devem ser realizadas a fim de aprimorar as dosagens, sais e intervalos de aplicação, além de proporcionar repetibilidade e otimização dos resultados.

Palavras chave: Hipófise; GnRH; *Piaractus mesopotamicus*; *Brycon orbygnianus*; *Prochilodus lineatus*; gonadorelina

REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF PACU, PIRACANJUBA AND CURIMBA INDUCED BY BUSERELINE EXTRACT

ABSTRACT

The analogues of gonadotropin-releasing hormone (GnRH_a) as buserelin have advantages in relation to gonadotropins. Considering the lack of information on the reproductive performance of rheophilic species induced by such hormones, this study aimed to evaluate the breeding performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*), piracanjuba (*Brycon orbygnianus*) and curimba (*Prochilodus lineatus*) treated with buserelin extract (EB). Only in females was applied a previous dose of 0.125 mL kg⁻¹ of fish. Twelve hours later, both males and females received a dose of 0.25 mL of EB kg⁻¹, and then another dose of 0.75 mL of EB kg⁻¹ over 12 hours later. Only the curimba and piracanjuba males had sperm showing mean sperm motility above 90% and over 23 minutes duration, with percentage of abnormal sperm lower than 9%. Females of pacu, piracanjuba and curimba spawned on 7.7, 5.2 and 7.8 hours respectively after the last hormone dosage, although only the curimba females have shown fertilization rates above 35%. Nevertheless, further research should be conducted to enhance the strengths, salts and ranges of application, and provide repeatability and optimize results.

Key words: Pituitary; GnRH; *Piaractus mesopotamicus*; *Brycon orbygnianus*; *Prochilodus lineatus*; gonadorelin

Artigo Científico: Recebido em 05/01/2011 – Aprovado em 22/03/2011

¹ Doutorando(a) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias - Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras – UFLA. e-mail: mspnichelle@bol.com.br; amiliorini@dmv.ufla.br

² Professor Doutor - Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Fisiologia e Farmacologia. Universidade Federal de Lavras (UFLA). Caixa Postal 3037 – CEP: 37.200-000 – Lavras – MG – BRASIL. e-mail: lsmurgas@ufla.br

³ Mestrando – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinária - Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras – UFLA. e-mail: pdminas@yahoo.com.br

⁴ Doutoranda – Programa de Pós-graduação em Zootecnia - Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras – UFLA. e-mail: viviofbio@yahoo.com.br

* Apoio financeiro: CAPES e Fapemig

INTRODUÇÃO

A maioria das espécies de peixes nativos do Brasil, com potencial para criação em cativeiro, é de peixes reofílicos, que realizam migração em direção à nascente do rio na época da reprodução. Essa migração é desencadeada por processos essenciais para o preparo da reprodução (MURGAS *et al.*, 2003a). De acordo com os mesmos autores, em viveiros de piscicultura, a privação desse comportamento migratório impede que esses peixes atinjam o preparo fisiológico para a reprodução. Sendo assim, para garantir a fertilização, essas espécies são submetidas à indução hormonal exógena, geralmente com extratos hipofisários, a fim de desencadear o processo de maturação final e liberação dos gametas.

As técnicas de reprodução artificial constituem uma prática adequada, na qual 20 a 70% dos ovos fertilizados se tornam alevinos. Entretanto, para algumas espécies de peixes, essa técnica apresenta problemas, tais como ausência de vitelogênese e maturação final dos ovócitos, além de reduzida capacidade de realizar a espermatogênese e espermição, levando à produção de sêmen de baixa quantidade e qualidade (MYLONAS e ZOHAR, 2001).

Vale destacar, ainda, que os hormônios utilizados na reprodução induzida apresentam custo elevado (CARNEIRO e MIKOS, 2008), desfavorecendo essa técnica. Essas desvantagens justificam os estudos da utilização de substâncias sintéticas na reprodução induzida, com intuito de aperfeiçoar os processos de indução e maturação final em peixes e minimizar os custos (BOMBARDELLI *et al.*, 2006).

Análogos do GnRH vem sendo testados na reprodução artificial de peixes, pois esses compostos apresentam vantagens em relação às gonadotrofinas, tais como estimulação da maturação gonadal, incapacidade de desencadear resposta imune, melhora na integração com funções fisiológicas que afetam processos endócrinos e diminuição do risco de transmissão de doenças aos reprodutores (ZOHAR e MYLONAS, 2001).

De acordo com PEREIRA *et al.* (2009), os hormônios sintéticos não apresentam dificuldade

de padronização em relação à quantidade de gonadotrofinas em sua composição, ao contrário dos extratos hipofisários. Alguns destes hormônios têm sido utilizados para espécies de peixes (VAZIRZADEH *et al.*, 2008). A buserelina ([D-Ser(tBu)⁶,Pro⁹-NEt]-GnRH_a), um nonapeptídico agonista de GnRH, é um destes compostos sintéticos utilizado na indução da maturação reprodutiva da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (ARABACI *et al.*, 2004).

Dessa forma, considerando-se a ausência de informações a respeito da reprodução de espécies reofílicas no Brasil, induzidas com buserelina, este trabalho objetivou avaliar o desempenho dos reprodutores (machos e fêmeas) de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) e curimba (*Prochilodus lineatus*) induzidos com esse hormônio.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período da piracema, compreendido entre os meses de novembro de 2009 e janeiro de 2010, na Estação Ambiental de Itutinga, da Companhia Energética de Minas Gerais (EAI-CEMIG), no município de Itutinga-MG, e no Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Dez casais de pacu, piracanjuba e curimba foram selecionados, de acordo com características externas (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989). Os animais foram pesados com a finalidade de se calcular as doses hormonais a serem administradas e, em seguida, foram acondicionados em aquários de alvenaria, com capacidade de 2.000 L, com renovação constante de água (cerca de 6 L por minuto) e temperatura média de 26°C.

Para a aplicação hormonal, os animais foram contidos pela cabeça e pelo pedúnculo caudal e retirados parcialmente da água; em seguida, os reprodutores foram induzidos com extrato de buserelina (EB) na base da nadadeira dorsal, por via intramuscular. As fêmeas receberam uma dose prévia de 0,125 mL de extrato de buserelina (EB) kg⁻¹ de peixe, pois, segundo ZANIBONI FILHO e BARBOSA (1996), a aplicação de uma dosagem prévia de hormônio, anterior ao tratamento

convencional, possibilita maior produção qualitativa e quantitativa dos gametas. Doze horas depois, machos e fêmeas receberam a 1^o dose de 0,25 mL de EB kg⁻¹; a 2^o dose (0,75 mL de EB kg⁻¹) foi aplicada doze horas após a primeira. Estas doses propiciaram os melhores resultados na fase pré-experimental, e foram idealizadas valendo-se da dose de 0,25 mL utilizada por ARABACI *et al.* (2004) e do protocolo de hipofização de tambaqui proposto por MUNIZ *et al.* (2008).

A partir da 2^o dose hormonal, aferiu-se a temperatura da água dos aquários, a cada hora, com precisão de 1°C, para se determinar a hora/grau necessária para ocorrência da desova e consequente liberação dos gametas (extrusão). A avaliação da eficácia da dosagem de EB foi realizada considerando-se, nos machos, o volume seminal, a taxa e a duração da motilidade espermática bem como, a morfologia dos espermatozoides. Para a avaliação da motilidade, o sêmen foi observado em microscópio de luz pré-focalizado (40 dioptrias) e ativado com bicarbonato de sódio 90 mM, segundo metodologia proposta por PAULINO (2009), obedecendo a proporção de 1:4, ou seja, para cada 1 parte de sêmen utilizou-se 4 partes da solução ativadora. A taxa de motilidade foi estimada subjetivamente, e sua duração considerada até que 10% dos espermatozoides estivessem com motilidade progressiva.

Para se avaliar a morfologia e a concentração espermática, foi realizada uma diluição de 10 µL de sêmen em 990 µL de solução de formol citrato (2,9 g de citrato de sódio, 4 ml de solução comercial de formaldeído 35% e água destilada q.s.p. 100 mL), segundo metodologia empregada por MILIORINI *et al.* (2011). Na análise de morfologia espermática, foram contados 200 espermatozoides de cada animal. As anormalidades verificadas foram classificadas em maiores ou menores (Quadro 1). O critério de classificação baseou-se no prejuízo que podem exercer sobre a fertilidade da célula espermática (MILIORINI, 2006).

Nas fêmeas, foram analisados o período de tempo desde a última aplicação hormonal até a desova e o diâmetro dos ovócitos, sendo, este último, analisado conforme metodologia utilizada por PEREIRA *et al.* (2009).

Quadro 1. Anormalidades dos espermatozoides examinadas no sêmen *in natura*

Porção acometida	Maiores	Menores
Cabeça	Macrocefalia Microcefalia Degenerada	Isolada normal
Peça intermediária	Degenerada (PID)	
Restante do flagelo	Fraturado Enrolado Degenerado	Dobrado

A quantidade de ovócitos liberados por cada fêmea foi pesada em balança analítica, imediatamente após a extrusão. Em seguida, os ovócitos extruídos foram homogenizados junto ao sêmen coletado de um único macho, decorrendo imediatamente a hidratação gradativa com água do tanque até a proporção de 1 mL : 10 mL (sêmen/ovócitos : água), por cerca de 2 minutos. A seguir, a mistura foi alocada em incubadoras, tipo funil, com capacidade de 200 L.

A taxa de fertilização foi avaliada na fase de fechamento do blastóporo, a partir de três amostras de 300 ovos cada, retirados das incubadoras. A taxa de fertilização foi determinada segundo a fórmula:

$$\text{Taxa de fertilização} = (E \times 100) / (E + i),$$

em que:

E: total de embriões viáveis

i: total de embriões não viáveis

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Tabela 1 indicam que o EB foi efetivo somente na indução da maturação espermática e da espermição de curimba e de piracanjuba, apresentando valores médios da motilidade e anormalidades espermáticas suficientes à fertilização dos ovócitos. Ao contrário, nenhum dos machos de pacu respondeu ao tratamento hormonal, não sendo, portanto, possíveis a coleta e a avaliação espermática.

A análise do sêmen das espécies que responderam ao protocolo de indução hormonal é comparável à qualidade do sêmen

in natura, tanto no que se refere à taxa quanto à duração da motilidade (MURGAS *et al.*, 2003b;

ROMAGOSA *et al.*, 2010; VIVEIROS *et al.*, 2010).

Tabela 1. Valores médios de motilidade (porcentagem e duração) e anormalidades do sêmen *in natura* de curimba (*Prochilodus lineatus*) e piracanjuba (*Brycon orbygnianus*) induzidos à EB*

Espécie	Motilidade		Anormalidades (%)		
	(%)	(min)	Maiores	Menores	Média
Curimba	90 ± 5	23 ± 2	5 ± 1	11 ± 2	8 ± 1
Piracanjuba	93 ± 3	25 ± 3	6 ± 3	18 ± 5	12 ± 3
Média	92 ± 3	24 ± 2	6 ± 1	12 ± 3	9 ± 2

* Médias seguidas do erro-padrão da média

Considerando, ainda, que as concentrações espermáticas médias foram de $9,89 \pm 0,91 \times 10^9$ e de $43,8 \pm 13,56 \times 10^9$ espermatozoides mL^{-1} para curimba e piracanjuba, respectivamente, pode-se inferir, com base no erro-padrão da média, que os machos de curimba apresentaram uma resposta mais homogênea ao EB, ou seja, com menor variação individual. É possível que haja maior afinidade entre os receptores e o EB para a espécie.

A porcentagem média de anormalidades totais observada no sêmen *in natura* de curimba foi semelhante às observadas por KAVAMOTO *et al.* (1999) e MORAES *et al.* (2004), que constataram, nesta ordem, ocorrência de 7,22% e 9,54% de anormalidades totais em exemplares induzidos por extrato bruto de hipófise de carpa. Entretanto, tanto as porcentagens médias de anormalidades maiores quanto de anormalidades menores, observadas para o sêmen de curimba, foram superiores às verificadas por MILIORINI *et al.* (2011) (1,8% e 1,2%, respectivamente). Ponderando-se que a metodologia de análise e as classificações morfológicas empregadas neste trabalho foram as mesmas dos autores citados, pode-se supor que a liberação de gonadotrofinas, estimulada pela aplicação do EB, tenha sido insuficiente para a maturação total dos espermatozoides das três espécies. Este fato poderá ser confirmado pela comparação estatística do EB com o extrato de hipófise, e pela quantificação de linhagens de células mais jovens como as espermátides em outros estudos.

Poucos trabalhos têm estudado as anormalidades espermáticas em peixes reofílicos, entretanto, utiliza-se a terminologia “patologias”. Como ainda não há estudos correlacionando-se o tipo de “patologia” e o seu grau de interferência sobre a fertilidade, torna-se mais razoável referir-se a tais peculiaridades morfológicas como “anormalidades”, dada a comparação com a maioria dos espermatozoides em uma amostra e a semelhança que têm com aquelas encontradas no sêmen de mamíferos domésticos.

A anormalidade mais incidente no sêmen de curimba e a segunda, para o sêmen de piracanjuba, foi a da peça intermediária degenerada (Figura 1). Esta anormalidade não foi observada por MILIORINI *et al.* (2011) no sêmen *in natura* de curimba, mas o foi para as amostras descongeladas, levando-os a concluir que o congelamento teria provocado seu aparecimento.

A mesma conclusão foi descrita por STREIT JR. *et al.* (2009) sobre a macrocefalia em sêmen de exemplares de pacu tratados com extrato de hipófise de carpa. Os resultados do presente estudo reforçam, portanto, a necessidade de investigação pormenorizada do acometimento das anormalidades em peixes e de suas consequências, e se o tratamento hormonal se reflete sobre estas anormalidades. Esta última consideração é necessária quando se analisa a semelhança, observada por STREIT JR. *et al.* (2006), entre machos de pacu tratados com extrato de hipófise e não tratados, indiferente do agente indutor utilizado quanto à incidência de anormalidades.

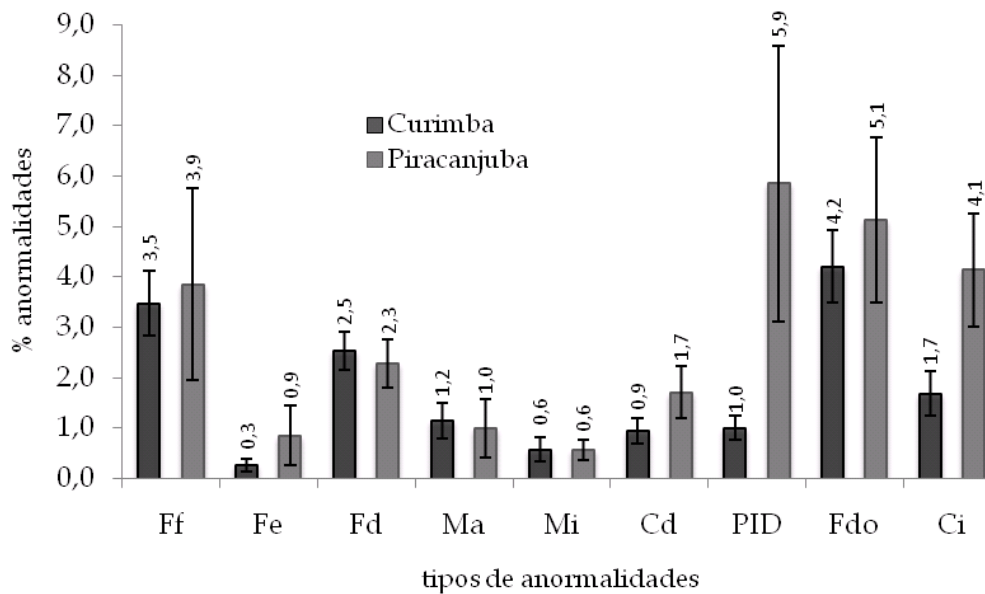


Figura 1. Percentual de anormalidades espermáticas verificadas para exemplares de curimbatá (*Prochilodus lineatus*) e de piracanjuba (*Brycon orbygnianus*) induzidos à espermição pelo EB. Ff: Flagelo fraturado; Fe: Flagelo enrolado; Fd: Flagelo degenerado; Ma: Macrocefalia; Mi: Microcefalia; Cd: Cabeça degenerada; PID: Peça intermediária degenerada; Fdo: Flagelo dobrado; Ci: Cabeça isolada. A barra vertical indica o erro padrão da média

O EB induziu a desova das três espécies, após cinco a oito horas da aplicação da 2ª dosagem hormonal, tanto no que se refere ao peso como ao

período de tempo previsto (em relação às horas-grau para cada espécie) para que a mesma ocorresse (Tabela 2).

Tabela 2. Desempenho reprodutivo de fêmeas de curimba (*Prochilodus lineatus*), piracanjuba (*Brycon orbygnianus*) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) induzidas à desova pelo EB*

Espécie	Período da desova após indução (h)	Peso da desova (g)	Fertilização (%)
Curimba	7,8 ± 0,2	357 ± 20	40 ± 5
Piracanjuba	5,2 ± 0,1	254 ± 24	0
Pacu	7,7 ± 1,0	502 ± 43	0

* Médias seguidas do erro-padrão da média

Não foi possível avaliar a fertilidade dos ovócitos de pacu em virtude de os machos não terem respondido ao tratamento hormonal. Ao contrário, pode-se supor que os ovócitos de piracanjuba não atingiram o grau de desenvolvimento suficiente à sua fertilização, uma vez que nenhuma larva foi obtida, apesar da comprovada qualidade seminal. Uma maneira de se estimar, com maior precisão, a qualidade dos ovócitos é avaliar a posição da vesícula germinativa.

Os diâmetros médios dos ovócitos de curimba, piracanjuba e pacu foram, nesta ordem, de $0,77 \pm 0,01$ cm, $0,70 \pm 0,00$ cm e de $0,73 \pm 0,00$ cm, valores inferiores aos observados por PEREIRA *et al.* (2009), oito horas após a aplicação da última dosagem dos tratamentos que combinaram EBHC e Gonadotrofina coriônica equina (eCG). Levando-se em conta os resultados obtidos para a fertilização de curimba, pode-se inferir, contudo, que não houve influência

negativa do diâmetro sobre a qualidade dos ovócitos, e que esta variação poderia ocorrer na natureza em determinadas épocas de escassez pluviométrica, por exemplo, sem prejuízo reprodutivo.

Os pesos médios e os intervalos mensurados, desde a última aplicação até a desova, foram considerados dentro do esperado para as espécies estudadas. Quanto a esta última variável, cabe destacar que uma alteração na concentração hormonal poderia suscitar, nos animais estudados, uma resposta, não somente em qualidade, como na premeditação da desova. Um exemplo que ilustra tal possibilidade é que os exemplares de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), submetidos à injeção de 50 µg de buserelina kg⁻¹, desovaram dentro de 10 dias após o tratamento, em relação aos animais tratados com metade da dosagem, que desovaram em 13 dias (ARABACI *et al.*, 2004). É importante ressaltar, ainda, que a dosagem de EB (CURRY e TSUKAMOTO, 1988), o tipo de sal (ESPINOZA *et al.*, 2010), o intervalo de aplicação (VAZIRZADEH *et al.*, 2008), bem como o *status* fisiológico, contribuem para a efetividade de um protocolo hormonal, o que sugere que, diante dos resultados alcançados para machos e fêmeas de curimba, modificações no protocolo possam promover a indução dos reprodutores das espécies estudadas e melhorar a taxa de fertilização de curimba.

CONCLUSÕES

O extrato de buserelina só não promoveu a indução da espermiacção em exemplares de pacu. Apesar de ter estimulado a ovocitação de piracanjuba, não foi possível obter larvas após a fertilização.

Assim, conclui-se que esse hormônio sintético pode substituir os protocolos hormonais tradicionais, desde que pesquisas sejam realizadas com o intuito de aprimorar as dosagens, saís e intervalos de aplicação.

AGRADECIMENTOS

À Companhia Energética de Minas Gerais CEMIG, pela fundamental colaboração na realização deste e de outros inúmeros trabalhos ligados à piscicultura, primando conosco pela

preservação da fauna de Piracema e do ecossistema aquático.

REFERÊNCIAS

- ARABACI, M.; DILER, I.; SARI, M. 2004 Induction and synchronisation of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by administration of emulsified buserelin (GnRHa) and its effects on egg quality. *Aquaculture*, Amsterdam, 237(1-4): 475-484.
- BOMBARDELLI, R.A.; SYPERRECK, M.A.; SANCHES, E.A. 2006 Hormônio liberador de gonadotrofinas em peixes: aspectos básicos e suas aplicações. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar*, Umuarama, 9(1): 59-65.
- CARNEIRO, P.A.F.E. e MIKOS, J.D. 2008 Gonadotrofina coriônica humana e hormônio liberador de gonadotrofina como indutores da reprodução do jundiá. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, Maringá, 30(3): 345-350.
- CURRY, M.X. e TSUKAMOTO, R.Y. 1988 A utilização de LHRH-a (Gonadorrelina) na reprodução induzida do pacu, *Colossoma mitrei* em condições de campo. In: POLI, C.R.; SOUZA, D.O.; PICCININ, I.S.; NASCIMENTO, P.A.M.; RODRIGUES, J.B.R. (Ed.). MEMÓRIAS DO SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE ACUACULTURA, 6. Anais... Florianópolis, SC. p.174.
- ESPINOZA, C.; PEREA, A.; BUITRON, B.; CISNEROS, P.; CATCOPARCO, C.; ALBERRO, A.; VIZZIANO, D. 2010 Induction of spawning and spermiation in captive Peruvian anchovy *Engraulis ringens* (Jenyns) using GnRH analogue injection. *Latin American Journal of Aquatic Research*, Valparaíso, 38(2): 234-241.
- KAVAMOTO, E.T.; BARNABE, V.H.; CAMPOS, B.E.S.; ANDRADE TALMELLI, E.F. 1999 Anormalidades morfológicas nos espermatozoides de curimbatá, *Prochilodus lineatus* (Steindachner, 1881) (Osteichthyes, Characiformes, Prochilodontidae). *Boletim Instituto de Pesca*, São Paulo, 25: 61-66.
- MILIORINI, A.B. 2006 *Ativadores e concentrações de metanol e dimetilsulfóxido na qualidade do sêmen criopreservado de curimba (Prochilodus lineatus)*. Lavras, 99p. (Dissertação de Mestrado em

- Ciências Veterinárias. Universidade Federal de Lavras - UFLA).
- MILIORINI, A.B.; MURGAS, L.D.S.; ROSA, P.V.; OBERLENDER, G.; PEREIRA, G.J.M.; COSTA, D.V. 2011 A morphological classification proposal for curimba (*Prochilodus lineatus*) sperm damages after cryopreservation. *Aquaculture Research*, Oxford, 42: 177-187.
- MYLONAS, C.C. e ZOHAR, Y. 2001 Use of GnRHa - delivery system for the control of reproduction in fish. *Reviews in fish biology and fisheries*, London, 10: 463-491.
- MORAES, G.V.; STREIT JR., D.P.; RIBEIRO, R.P.; SAKAGUTI, E.S.; SOUZA, E.D.; POVH, J.A. 2004 Ação de diferentes indutores reprodutivos hormonais no aparecimento de anormalidades morfológicas em espermatozoides de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*), curimbatá (*Prochilodus lineatus*) e carpa comum (*Cyprinus carpio*). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo 30: 109-116.
- MUNIZ, J.A.S.M.; CATANHO, M.T.J.A.; SANTOS, A.J.G. 2008 Influência do fotoperíodo natural na reprodução induzida do tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 34(2): 205-211.
- MURGAS, L.D.S.; VIVEIROS, A.T.M.; MARIA, N.A.; FREITAS R.T.F. 2003a Reprodução/espécies próprias para a piscicultura. Lavras, UFLA/FAEPE. 28p.
- MURGAS, L.D.S.; FRANCISCATTO, R.T.; SANTOS, A.G.O. 2003b Sperm evaluation of Piracanjuba fish (*Brycon orbignyanus*, Valenciennes, 1849), after thawing. *Revista Brasileira de Zootecnia - Brazilian Journal of Animal Science*, Viçosa, 32(6): 1810-1814.
- PAULINO, M.S. 2009 Criopreservação do sêmen de curimba (*Prochilodus lineatus*): Técnicas para o descongelamento. Lavras, 70p. (Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias. Universidade Federal de Lavras - UFLA).
- PEREIRA, G.J.M.; MURGAS, L.D.S.; SILVA, J.M.A.; MILIORINI, A.B.; LOGATO, P.V.R.; LIMA, D. 2009 Indução da desova de curimba (*Prochilodus lineatus*) utilizando ECG e EBHC1. *Revista Ceres*, Lavras, 56(2): 156-160.
- ROMAGOSA, E.; SOUZA, B.E.; SANCHES, E.A.; BAGGIO, D.M.; BOMBARDELLI, R.A. 2010 Sperm motility of *Prochilodus lineatus* in relation to dilution rate and temperature of the activating medium. *Journal of Applied Ichthyology*, Malden, 26(5): 678-681.
- STREIT JR., D.P.; RIBEIRO, R.P.; MORAES, G.V.; MENDEZ, L.V.; GALLO, J.M.; DIGMAYER, M.; J.A. POVH. 2006 Características qualitativas do sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após indução hormonal. *Bioscience Journal*, Uberlândia, 22(3): 119-125.
- STREIT JR., D.P.; OLIVEIRA, A.C.; RIBEIRO, R.P.; SIROL, R.N.; MORAES, G.V.; GALLO, J.M.; DIGMAYER, M. 2009 Motilidade, vigor e patologias seminais in natura e pós criopreservação de *Piaractus mesopotamicus*. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 35(2): 159-167.
- VAZIRZADEH, A.; HAJIMORADLOO, A.; ESMAEILI, H.R.; AKHLAGHI, M. 2008 Effects of emulsified versus saline administration of GnRHa on induction of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, Amsterdam, 280(1): 267-269.
- VIVEIROS, A.T.M.; NASCIMENTO, A.F.; ORFÃO, L.H.; ISAU, Z.A. 2010 Motility and fertility of the subtropical freshwater fish streaked prochilod (*Prochilodus lineatus*) sperm cryopreserved in powdered coconut water. *Theriogenology*, New York, 74(4): 551-556.
- WOYNAROVICH, E. e HORVÁTH, L. 1989 Propagação artificial de peixes de águas tropicais: Manual de Extensão. Brasília, FAO/CODEVASF/CNPQ. 225p.
- ZANIBONI-FILHO, E. e BARBOSA, N.D.C. 1996 Priming hormone administration to induce spawning of some Brazilian migratory fish. *Revista Brasileira de Biologia*, São Carlos, 56: 655-659.
- ZOHAR, Y. e MYLONAS, C.C., 2001 Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, Amsterdam, 197: 99-136.