

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CARACTERIZAÇÃO DA BIOLOGIA REPRODUTIVA DE VIOLINHA
(*Loricariichthys anus*)

DOUGLAS COSME SELLE
Engenheiro Agrônomo

Porto Alegre (RS). Brasil

Março de 2023

DOUGLAS COSME SELLE

**CARACTERIZAÇÃO DA BIOLOGIA REPRODUTIVA DE VIOLINHA
(*Loricariichthys anus*)**

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Danilo Pedro Streit Junior

Coorientador: Dr. Marco Aurélio Rotta

Porto Alegre – RS

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Selle, Douglas Cosme
Caracterização da biologia reprodutiva de Violinha
(Loricariichthys anus) / Douglas Cosme Selle. -- 2023.
69 f.
Orientador: Danilo Pedro Streit Jr..

Coorientador: Marco Aurélio Rotta.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Cinética espermática. 2. concentração
espermática. 3. dimorfismo sexual. 4. IGS. 5.
morfologia espermática. I. Pedro Streit Jr., Danilo,
orient. II. Aurélio Rotta, Marco, coorient. III.
Título.

Douglas Cosme Selle
Agrônomo

DISSERTAÇÃO


Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM ZOOTECNIA


Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 30.03.2023
Pela Banca Examinadora


Homologado em: 07/06/2023
Por

 Documento assinado digitalmente
por DANILLO PEDRO STREIT JUNIOR
CPF: 030725031396-742125
Verifique em <https://validar.it.gov.br>


DANILO PEDRO STREIT JUNIOR
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador

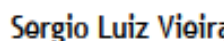
 Documento assinado digitalmente
por JAYME APARECIDO POVH
CPF: 030725031396-742125
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Jayme Aparecido Povh
UFSM


 Documento assinado digitalmente
por MONICA RODRIGUES FERREIRA MACHADO
Data: 2023.06.14 11:08:28 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Monica Rodrigues Ferreira Machado
UFJ

 Documento assinado digitalmente
por DARCI CARLOS FORNARI
CPF: 02543819959
Data: 2023.05.03
08:00:46 -0400
Darci Carlos Fornari
Auburn

 Documento assinado digitalmente
por SERGIO LUIZ VIEIRA
Data: 2023.06.14 11:08:28 -0300

Sergio Luiz Vieira
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia

 Documento assinado digitalmente
por CARLOS ALBERTO BISSANI
Data: 16/06/2023 15:16:27 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de Agronomia

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus pelas oportunidades concedidas ao longo da minha vida, pela saúde e sabedoria para poder persistir e concluir com êxito todas as demandas.

À minha esposa Carolina Boneberg Muzykant e meu filho Frederico Muzykant Selle, por todo apoio, carinho, compreensão nos momentos estressantes, além da participação nas atividades acadêmicas e pessoais, os quais foram fundamentais durante o caminho trilhado, em especial na elaboração deste trabalho.

Aos meus pais, Vilson Ricardo Selle e Angelica Celestes Cosme Selle e minha irmã Barbara Cosme Selle, por todo o apoio e por acreditarem em mim ao longo desses anos de estudo e, principalmente, por auxiliar nas tomadas de decisões, com conselhos valiosos.

Aos meus avós Luiz Carlos de Azevedo Cosme e Clelia Jardim Cosme, em especial ao meu avô, o qual inspirou a utilização da espécie proposta no trabalho, sendo ele o primeiro pescador artesanal e comerciante a inserir no mercado de consumidor os primeiros kgs de filé de violinha, tornando-se atualmente, a segunda espécie nativa mais consumida em nosso estado.

Aos amigos por todo o apoio e auxílio quando necessário, minha eterna gratidão, pois foram fundamentais em todo o processo e alguns em pontos específicos desse processo, pois com certeza sem eles eu não chegaria a esse momento.

Aos colegas e amigos do grupo AQUAM, por todo o conhecimento transmitido e, em especial, aos que trabalharam ativamente para realização deste trabalho (Itamar, Johny, Karel, Renata, Tales Fabris, Thaiza, Thales Flores e Thales França) pois não mediram esforços para auxiliar sempre que solicitado, sem dúvidas poderão contar comigo sempre que precisarem.

Ao saudoso cientista de pesca e professor de piscicultura e apicultura Vitor Caio Domingos Mena Barreto De Carli, por me apresentar o mundo da piscicultura, por todo o conhecimento teórico e prático passado, principalmente relacionado a produção e reprodução de peixes, além do grande amigo que se tornou. Agradeço também a sua esposa Sonia e seu filho Giovane, os quais tornaram-se grandes amigos da família,

por me doarem a sua biblioteca pessoal, além de seus manuscritos, com ideias valiosíssimas, os quais também contribuíram para realização desse trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Danilo Pedro Streit Jr. por todo o conhecimento transmitido na área acadêmica, científica e pessoal. Pela paciência nas horas de precisão, pelas oportunidades concedidas e pela parceria ao longo desses dois anos de trabalho/estudo, para mim é uma honra fazer parte de um grupo tão seleta.

Ao meu coorientador, ex-chefe e amigo, Dr. Marco Aurelio Rotta, por todo o apoio ao longo desses anos em que nos conhecemos, sempre me auxiliando e incentivando quando preciso, minha eterna gratidão a tudo que fez e continua fazendo.

Aos alunos do grupo GERPA (UNIFESSPA) Raquel e Marcelle, em especial ao Prof. Dr. Diógenes Siqueira, por todas as ideias, auxílio e trabalho realizado para compor esse documento, sem dúvidas foram fundamentais para elaboração e desenvolvimento deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Caracterização da biologia reprodutiva de Violinha (*Loricariichthys anus*)

Autor: Douglas Cosme Selle

Orientador: Danilo Pedro Streit Jr.

Coorientador: Marco Aurélio Rotta

RESUMO - A violinha (*Loricariichthys anus*) vem se destacando comercialmente no sul do Brasil nas últimas três décadas, tornando-se um importante recurso pesqueiro. Visto sua elevada aceitação de mercado no Rio Grande do Sul, é o segundo peixe nativo mais consumido na semana santa em 2021, sendo vista como uma espécie com grande potencial para aquicultura. Com intuito de realizar a caracterização sexual da espécie e elucidar aspectos biológicos importantes para o desenvolvimento de protocolos de reprodução em cativeiro, o presente estudo realizou as seguintes análises com o objetivo de caracterizar o ciclo reprodutivo anual: Dimorfismo sexual; Índice Gonadossomático (IGS); Histologia gonadal de machos e fêmeas; Cinética espermática; Concentração espermática; e Morfologia espermática. Para analisar as variações desses fatores ao longo do ano, foram coletados no rio Guaíba, de novembro de 2021 a outubro de 2022, seis machos e seis fêmeas ao mês, totalizando 144 animais ($51,02 \pm 16,61$ g e $22,3 \pm 1,96$ cm). Os animais foram anestesiados, eutanasiados, mensurados e pesados e suas gônadas foram obtidas por dissecação, pesadas em balança de precisão. Parte de cada uma das gônadas masculinas foram maceradas afim de se obter sêmen (para as análises cinéticas, de concentração e morfológica), e a outra parte, juntamente com as gônadas femininas, fixadas em glutaraldeído 2,5% para posterior análise histológica. A avaliação morfológica dos animais baseou-se em trabalhos de avaliação para Família Loricariidae, obtendo-se um único ponto de dimorfismo, o lábio inferior dos machos ($7,8 \pm 2,71$ mm), que apresentou alongamento de 2 a 3 vezes o seu tamanho normal ($5,3 \pm 0,70$ mm), além de apresentar escurecimento nas laterais e porção final do lábio inferior, durante os meses de novembro a março. Quanto à análise do IGS, os dados foram observados, mês a mês para machos e fêmeas foram, apresentação a seguinte variação, respectivamente: $0,41 \pm 0,10$ e $4,73 \pm 0,51$ (novembro); $0,35 \pm 0,11$ e $5,53 \pm 1,33$ (dezembro); $0,41 \pm 0,11$ e $4,29 \pm 1,91$ (janeiro); $0,55 \pm 0,09$ e $3,29 \pm 3,57$ (fevereiro); $0,16 \pm 0,09$ e $0,68 \pm 0,94$ (março); $0,17 \pm 0,07$ e $0,90 \pm 0,40$ (abril); $0,06 \pm 0,03$ e $0,69 \pm 0,59$ (maio); $0,24 \pm 0,05$ e $0,94 \pm 0,42$ (junho); $0,18 \pm 0,12$ e $0,72 \pm 0,28$ (julho); $0,28 \pm 0,21$ e $0,73 \pm 0,59$ (agosto); $0,14 \pm 0,03$ e $1,53 \pm 1,40$ (setembro); $0,21 \pm 0,13$ e $2,79 \pm 3,93$ (outubro). As gônadas fixadas foram incluídas em paraplást e seccionadas em micrótomo manual para a montagem das lâminas, as quais foram coradas em hematoxilina e eosina e analisadas por microscopia óptica para identificação das fases de maturação gonadal ao longo dos meses. Para fêmeas as análises indicam que entre novembro e março apresentaram oócitos maduros, além de demonstrar que há mais de uma ocorrência de desova total durante o período reprodutivo. Já os machos não apresentaram período reprodutivo definido, com ocorrência de espermatozoides durante todo o ano, porém em baixos volumes e, a partir de dezembro, já se observa os testículos regredindo, com um grande volume de espermatogônias. Para a análise da cinética espermática (Motilidade - MOT; velocidade curvilínear - VCL; velocidade em linha reta - VSL; velocidade média de deslocamento - VAP e progressividade - PROG), realizada com o software CASA, as amostras de sêmen foram diluídas em

Solução de Hank's e posteriormente ativadas com água destilada. Houve diferença ($p > 0,05$) para MOT entre os períodos analisados de novembro, janeiro e março ($25,58 \pm 0,05$; $1,97 \pm 0,02$ e $2,11 \pm 0,005$ %); VCL ($58,8 \pm 4,47$; $37,59 \pm 5,29$ e $41,28 \pm 6,9$ $\mu\text{m/s}$, respectivamente) e VAP ($40,1 \pm 4,99$; $20,71 \pm 3,04$ e $22,87 \pm 5,61$ $\mu\text{m/s}$). Para concentração espermática, as amostras foram posicionadas em câmara de Neubauer onde realizou-se a contagem de subjetiva de 5 campos e, posteriormente, o valor encontrado foi convertido, apresentando a média de $9.741.600 \pm 1.208.834$ espermatozoides/ml de sêmen, mas apenas durante o período reprodutivo (novembro a março). Nos demais meses não se obteve volume suficiente de sêmen para realizar a análise. Para morfologia foram contabilizados 200 espermatozoides em cada análise, obtendo-se os seguintes valores: Espermatozoides normais $103 \pm 21,79$; Cabeça solta $69 \pm 14,77$; Cauda curta $7 \pm 3,68$; Cabeça degenerada $6 \pm 4,16$; Macrocefalia $4 \pm 3,16$; Microcefalia $2 \pm 2,09$. Com os dados obtidos de IGS e histologia gonadal, pode-se afirmar que o período reprodutivo de *L. anus* ocorre entre os meses de novembro e fevereiro no rio Guaíba, corroborando com a informação de que a espécie apresenta dimorfismo sexual apenas durante o período reprodutivo. Também é possível afirmar que a espécie apresenta uma baixa quantidade de espermatozoides viáveis durante o período reprodutivo, além de baixa concentração espermática, quando comparadas à outras espécies da ordem Siluriforme ou, até mesmo, da família Loricariidae, podendo este ponto ser um gargalo para reprodução da espécie em cativeiro.¹

Palavras-chave: Cinética espermática; concentração espermática; dimorfismo sexual; IGS; morfologia espermática.

¹ Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (69 p.) março, 2023.

Characterization of reproductive biology of Violinha (*Loricariichthys anus*)

Author: Douglas Cosme Selle

Advisor: Danilo Pedro Streit Jr.

Co-advisor: Marco Aurélio Rotta

ABSTRACT - The "violinha" (*Loricariichthys anus*) has been commercially prominent in southern Brazil in the last three decades, becoming a vital fishery resource. Given its high market acceptance in Rio Grande do Sul, it is the second most consumed native fish in the Holy Week in 2021, being seen as a species with great potential for aquaculture. To perform the sexual characterization of the species and elucidate critical biological aspects for the development of captive breeding protocols, the present study was carried out the following analyses aiming to characterize the annual reproductive cycle: sexual dimorphism, gonadosomatic index (GSI), gonadal histology of males and females, sperm kinetics, sperm concentration, and sperm morphology. To analyze the variations of these factors throughout the year, six males and six females were collected monthly in the Guaíba River from November 2021 to October 2022, totaling 144 animals (51.02 ± 16.61 g and 22.3 ± 1.96 cm). The animals were anesthetized, euthanized, measured, and weighed, and their gonads were obtained by dissection and weighed on a precision scale. Part of each male gonad was macerated to get semen (for kinetic, concentration, and morphological analysis), and the other part, along with the female gonads, was fixed in Glutaraldehyde 2,5% for further histological analysis. The morphological evaluation of the animals was based on evaluation studies of the Loricariidae family. Was obtained a single characteristic for dimorphism the lower lip of males (7.8 ± 2.71 mm), which presented elongation of 2 to 3 times its standard size (5.3 ± 0.70 mm), besides showing darkening on the sides and final portion of the lower lip, during the months of November to March. As for the IGS analysis, the data were observed, month by month for males and females, presenting the following variation, respectively: 0.41 ± 0.10 and 4.73 ± 0.51 (November); 0.35 ± 0.11 and 5.53 ± 1.33 (December); 0.41 ± 0.11 and 4.29 ± 1.91 (January); 0.55 ± 0.09 and 3.29 ± 3.57 (February); 0.16 ± 0.09 and 0.68 ± 0.94 (March); 0.17 ± 0.07 and 0.90 ± 0.40 (April); 0.06 ± 0.03 and 0.69 ± 0.59 (May); 0.24 ± 0.05 and 0.94 ± 0.42 (June); 0.18 ± 0.12 and 0.72 ± 0.28 (July); 0.28 ± 0.21 and 0.73 ± 0.59 (August); 0.14 ± 0.03 and 1.53 ± 1.40 (September); 0.21 ± 0.13 and 2.79 ± 3.93 (October). The fixed gonads were embedded in paraplast and sectioned on a manual microtome to assemble slides, stained with hematoxylin and eosin, and analyzed by light microscopy to identify the phases of gonadal maturation over the months. For females, the analyzes indicate that between November and March, they presented mature oocytes, in addition to demonstrating that there is more than one occurrence of total spawning during the reproductive period. On the other hand, males did not present a defined reproductive period, with the occurrence of spermatozoa throughout the year, but with low volumes, and from December on, the testicles are already observed regressing, with a large volume of spermatogonial cells. For the sperm kinetics analysis (Motility - MOT; curvilinear velocity - VCL; straight line velocity - VSL; mean displacement velocity - VAP and progressivity - PROG), performed with the CASA software, the semen samples were diluted in Hank's Solution and later activated with distilled water. There were differences ($p > 0.05$) for MOT between the analyzed periods of November,

January, and March (25.58 ± 0.05 ; 1.97 ± 0.02 and 2.11 ± 0.005 %); VCL (58.8 ± 4.47 ; 37.59 ± 5.29 and 41.28 ± 6.9 $\mu\text{m/s}$, respectively) and VAP (40.1 ± 4.99 ; 20.71 ± 3.04 and 22.87 ± 5.61 $\mu\text{m/s}$). For sperm concentration, the samples were placed in a Neubauer chamber where a 5-field subjective count was performed. Subsequently, the value found was converted, presenting an average of $9,741,600 \pm 1,208,834$ spermatozoa/ml of semen, but only during the reproductive period (November to March). In the other months, we did not obtain enough semen volume to perform the analysis. For morphology, 200 spermatozoa were counted in each analysis, getting the following values: normal sperm 103 ± 21.79 ; loose head 69 ± 14.77 ; short tail 7 ± 3.68 ; degenerated head 6 ± 4.16 ; macrocephaly 4 ± 3.16 ; microcephaly 2 ± 2.09 . With the data obtained from IGS and gonadal histology, it can be stated that the reproductive period of *L. anus* occurs between November and February in the Guaíba River, corroborating the information that the species presents sexual dimorphism only during the reproductive period. It is also possible to state that the species shows a low amount of viable spermatozoa during the reproductive period, besides a low sperm concentration, when compared to other species of the order Siluriforme or even the family Loricariidae, and this may be a bottleneck for the reproduction of the species in captivity.²

Keywords: Sperm kinetics; sperm concentration; sexual dimorphism; IGS; sperm morphology.

² Master of Science dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (69 p.) March, 2023.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Imagem ilustrativa de um exemplar do cascudo-viola *Loricariichthys anus*. Foto: Douglas Cosme Selle (Coleta realizada em outubro de 2022)..... 17
- Figura 2.** Imagem demonstrativa dos principais pontos de ocorrência do cascudo-viola (*Loricariichthys anus*). 18
- Figura 3.** Imagem de um exemplar macho de cascudo-viola (*Loricariichthys anus*) incubando os ovos fertilizados em seu lábio inferior. Foto: Daniela Pereira da Rosa. 19
- Figura 4.** Desenvolvimento larval de cascudo-viola (*Loricariichthys anus*). Foto: Daniela Pereira da Rosa. 20
- Figura 5.** Imagem de filés de cascudo-viola (*Loricariichthys anus*) processados, sendo embalado para comercialização. Foto: Douglas Cosme Selle. 21
- Figura 6.** Imagem demonstrando o desenvolvimento embrionário de *Loricaria coximensis*. Foto: IMASUL, 2019. 27
- Figura 7.** Mapa com a localização do ponto de coleta dos espécimes no rio Guaíba. 35
- Figura 8.** Infográfico das análises de validação realizadas durante o desenvolvimento do estudo com machos de *L. anus*..... 38
- Figura 9.** Imagens exemplificando os três grupos utilizados para distinção de coloração de lábios superiores e inferiores do cascudo-viola (*Loricariichthys anus*): A) exemplar com lábio Normal; B) exemplar com Bordas escuras dos lábios inferior e superior; e C) exemplar com o Perímetro escuro dos lábios inferiores e superiores. 39
- Figura 10.** Variação mensal com desvio padrão do comprimento labial de machos e fêmeas de cascudo-viola *L. anus* capturados no rio Guaíba ao longo de 12 meses. 44
- Figura 11.** Índice gonadosomático (IGF) com desvio padrão de machos de *L. anus* capturadas no rio Guaíba ao longo de 12 meses..... 45
- Figura 12.** Índice gonadosomático (IGS) com desvio padrão de fêmeas de *L. anus* capturadas no rio Guaíba, relacionado com a pluviosidade ao longo de 12 meses. . 46
- Figura 13.** Representação histológica das fases de desenvolvimento testicular de cascudo-viola *Loricariichthys anus*. a) Testículo em Desenvolvimento, fase de

Maturação Inicial, com lúmen amplo (L) e cistos de células germinativas, espermátocitos (Sc) e espermátides (St); b) Testículo em Desenvolvimento, fase de Maturação Intermediária. Lúmen com espermatozóides (*), mas ainda são observados cistos de células germinativas (Sc); c-d) Animais Aptos à desova. Lúmen repleto de espermatozoides (*), porém apresentando espermatogônias (▶) e cistos de células germinativas (Sc e St) residuais. I = interstício. Barras de escala: 50 µm.....48

Figura 14. Representação histológica das fases de desenvolvimento testicular de cascudo-viola *Loricariichthys anus*. a) Animal em início de regressão, com aumento da região intersticial (I) e grande volume de espermatozóides residuais (rS); b-c) Animais em regressão com poucos espermatozoides residuais (rS) e células com núcleos picnóticos (Psc); d) Testículo em regeneração, com muitas espermatogônias (▶). Sc = cisto de espermátocitos; linha pontilhada representando a descontinuidade do epitélio. Barras de escala: 50 µm.49

Figura 15. Representação histológica das fases de desenvolvimento ovariana de cascudo-viola *Loricariichthys anus*. a-b) Ovário Em Desenvolvimento, com predomínio de oócitos Perinucleares (Pn) e alvéolos corticais (CA); c) Ovário Em Desenvolvimento, evidenciando os complexos foliculares pós ovulatórios (POC), evidenciando o retorno reprodutivo; d) Ovário Apto à Desova, com oócitos vitelogênicos (VO); e-f) Destaque de complexos foliculares pós ovulatórios. Barras de escala: a-d: 50 µm; e: 20 µm; f: 10 µm.....51

Figura 16. Variação mensal com desvio padrão do dos valores de cinética espermática para MOT de *L. anus* capturados no rio Guaíba.....51

Figura 17. Variação mensal com desvio padrão do dos valores de cinética espermática para VCL, VAP, VSL e PROG de *L. anus* capturados no rio Guaíba. ..52

Figura 18. Variação da concentração espermática do *L. anus* capturados no rio Guaíba entre os meses de novembro e março.53

Figura 19. Variação de espermatozoides Normais e Cabeça solta, entre os tratamentos da análise de morfologia espermática para *L. anus*.53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Locais de venda, compradores e valores de filés de cascudo-viola (<i>Loricariichthys anus</i>), congelada para ser servida em porções fritas.....	22
Tabela 2. Biometria do <i>L. anus</i> fêmeas (F) e machos (M) coletados para o estudo ao longo de um ano no lago Guaíba (média ± DP).	37
Tabela 3. Dados de coloração dos lábios de machos e fêmeas de <i>L. anus</i> ao longo de 12 meses.....	43
Tabela 4. Dados que obtiveram diferença estatística entre os parâmetros analisados para morfologia espermática de <i>L. anus</i>	53

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Sendo SPZ = espermatozoides; ESPZ = número total de espermatozoides contados; q.c. = quadrículas contadas; q.t. = quadrículas totais; profundidade da câmara = 0,10 mm e diluição = fator de diluição do sêmen pelo fixador (adaptado de SANCHES, 2011).....	41
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BCF – frequência de batimento cruzado
C x L x A – Comprimento x Largura x Altura
CASA – Computer-Aided Sperm Analysis
CEEE – Companhia estadual de energia elétrica
cm – Centímetros
CTLI – comprimento total do lábio inferior
DP – Desvio Padrão
Espz – Espermatozoides
g – Gramas
hCG – Gonadotrofina Corionica Humana
IGS – Índice Gonadossomático
Imasul – Instituto de Meio Ambiente de Mato Grosso do Sul
Kg – Quilograma
km² – Quilômetros quadrados
L – Litros
LIN – linearidade
MAPA – Ministério da Agricultura e Pecuária
mg – miligramas
mL – mililitro
mm – milímetros
MMA – Ministério do Meio Ambiente
mOsmI – miliOsmol
MOT – Motilidade
O₂ – Radical Superóxido
pH – potencial Hidrogênico
ppm – partes por milhão
PROG – Progressividade
RGS – Relação Gonadossomática
RS – Rio Grande do Sul
STR – retilinearidade
VAP – velocidade do percurso médio
VCL – velocidade do percurso curvilíneo
VSL – velocidade em linha reta
WOB – oscilação
µL – microlitro
µm – micrometro

1 SUMÁRIO

2	INTRODUÇÃO	16
3	REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	17
3.1	Características e histórico da espécie	17
3.2	Aspecto econômico	20
3.3	Captura das espécies nativas	23
3.4	Perspectivas para a produção de viola	24
3.5	Caracterização sexual	27
3.6	Reprodução inédita em cativeiro	32
3.7	Repovoamento	32
4	HIPÓTESES E OBJETIVOS	34
4.1	Hipóteses	34
4.2	Objetivo Geral	34
4.3	Objetivo Específico.....	34
5	MATERIAIS E MÉTODOS	35
5.1	Coletas	36
5.2	Processamento das amostras	37
5.3	Análise estatística	42
6	RESULTADOS.....	43
6.1	Análise morfofisiológica e histológica	43
6.2	Análise quali-quantitativa seminal	51
7	DISCUSSÃO	54
8	CONCLUSÃO	58
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
	REFERÊNCIAS	60

2 INTRODUÇÃO

A reprodução em cativeiro da viola (*Loricariichthys anus*) possui importância tanto ambiental como econômica, uma vez que a espécie já é largamente apreciada no sul e sudeste do Brasil. Possui alto valor agregado ao ter seu filé consumido em forma de petiscos, principalmente em bares, restaurantes e quiosques de praia. Justamente pelo seu alto valor de mercado, a sua captura vem se acentuando a cada ano, aumentando de forma significativa a pressão de pesca dessa espécie. Até o momento, todo o pescado comercializado é oriundo da pesca artesanal, a qual não é proibida. Entretanto, com a redução da disponibilidade de peixes, os pescadores utilizam as redes de espera com malhas cada vez menores, o que acaba pondo em risco a sustentabilidade deste importante recurso pesqueiro e de outras espécies que, muitas vezes, acabam sendo capturadas acidentalmente e não aproveitadas devido ao seu tamanho inferior ao exigido pelo mercado consumidor.

A reprodução de loricarídeos, embora tenha avançado nos últimos anos, ainda é uma temática pouco estudada, principalmente quanto aos estudos com fins de produção de proteína para consumo humano. Atualmente, a maior parte das pesquisas realizadas está relacionada a conservação das espécies, Caracterização de espécies invasoras e/ou a produção de espécies ornamentais, as quais possuem alto valor agregado (SOUZA, 2019; DIEN, 2022; CALDAS, 2019.)

Levando em consideração esta realidade, o objetivo deste estudo busca tornar mais plausível a possibilidade de se obter sucesso na reprodução em cativeiro de *L. anus*, até então não documentada, tornando possível a sua produção em sistemas aquícolas e, caso necessário, seu uso em projetos de repovoamento da espécie nos locais com baixos estoques. Para isso, há a necessidade de se entender a morfologia, fisiologia e comportamento reprodutivo da espécie, dando suporte para a elaboração de um possível protocolo de reprodução com uma estratégia reprodutiva viável em ambiente controlado.

3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1 Características e histórico da espécie

A espécie proposta para o estudo foi *Loricariichthys anus* (Valenciennes, 1835), popularmente conhecida como viola, violinha, cascudo-viola, entre outros. Pertencente a ordem dos Siluriformes e a família Loricaridae, tem como sua origem a América do Sul, ocorrendo naturalmente em rios e lagos costeiros do sul do Brasil (Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná), Argentina e Uruguai nas bacias do Rio Uruguai e baixo Rio Paraná (FERRARIS, 2003).

Com hábitos alimentares bentônicos, ou seja, alimentando-se de detritos e alimentos depositados ao fundo dos corpos hídricos, como também os depositados sobre superfícies em seu habitat, é considerado uma espécie iliófaga-onívora, pois alimenta-se de detritos de origem, tanto animal, quanto vegetal (ALBRECHT & SILVEIRA, 2001).

A viola se caracteriza por possuir o corpo achatado, cor marrom-amarelada, cabeça pontiaguda e o corpo coberto por placas ósseas (Figura 1) (MEGA & BEMVENUTI, 2006). Segundo Dufech et al. (2009), sua ocorrência no lago Guaíba, em estudo realizado em Itapuã (município de Viamão/RS), se dá principalmente em locais com fundo arenoso, sendo observado em até seis vezes maior quantidade, quando comparado a locais com presença de lodo ou material orgânico depositado.



Figura 1. Imagem ilustrativa de um exemplar do cascudo-viola *Loricariichthys anus*. Foto: Douglas Cosme Selle (Coleta realizada em outubro de 2022).

A ocorrência da espécie se dá no sul da América do Sul, iniciando nos rios costeiros do Brasil (Rio Grande do Sul e Santa Catarina), Uruguai e Argentina nas bacias do rio Uruguai e baixo Paraná (FISH BASE, 2021) conforme demonstrado na Figura 2. Sua ocorrência se dá principalmente em águas lóxicas e com fundo arenoso, independente da profundidade (BEHR & BALDISSEROTTO, 1994).

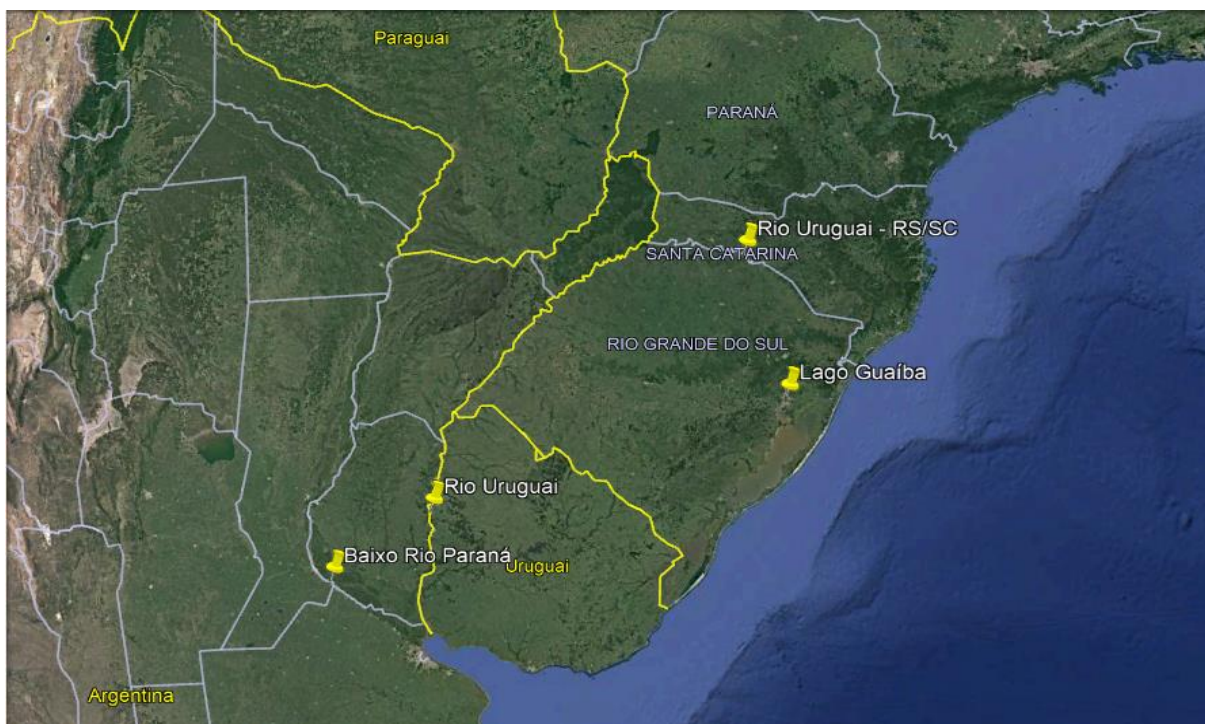


Figura 2. Imagem demonstrativa dos principais pontos de ocorrência do cascudo-viola (*Loricariichthys anus*).

Quanto às características reprodutivas da espécie, não foram encontrados dados referentes a idade para primeira maturação, entretanto ambos os sexos atingem a maturação sexual quando alcançam uma medida igual ou superior a 27,51 cm para fêmeas e 29,21 cm para os machos, na lagoa Emboaba (BRUSCHI JR., 1997). O período de maturação gonadal e, conseqüentemente, a maior fertilidade da espécie no reservatório chasqueiro, Arroio Grande-RS, encontra-se entre outubro e fevereiro, sendo para fêmeas, de outubro a janeiro, com pico em novembro e para machos de agosto a fevereiro, com pico em dezembro, caracterizando parte do período reprodutivo como assíncrono (CARDOSO, 2013). De modo geral, o gênero *Loricariichthys* sp. apresenta uma alta Relação Gonadossomática (RGS), a qual compreende a porcentagem que as gônadas representam do peso total dos indivíduos, podendo atingir um percentual máximos de 5,32%, quando as gônadas encontram-se maduras sexualmente (VAZZOLER, 1996). A espécie possui hábitos de

cuidados parentais, sendo o macho o responsável pela incubação dos ovos fertilizados, aderidos em seu lábio inferior, conforme exemplificado na Figura 3.



Figura 3. Imagem de um exemplar macho de cascudo-viola (*Loricariichthys anus*) incubando os ovos fertilizados em seu lábio inferior. Foto: Daniela Pereira da Rosa.

Atualmente há uma baixa ocorrência de estudos sobre a espécie, sem informações fundamentais sobre o comportamento alimentar, reprodutivo ou sobre o seu desenvolvimento, principalmente relacionado ao período entre fertilização e eclosão, além da ausência de informações sobre a curva de crescimento até o tamanho adulto, como visto em outras espécies de loricarídeos, a exemplo do *Rhinelepis aspera*, vulgarmente conhecido como Cascudo-preto (LOPEZ, 2005; SANCHES, 2005; SOUZA, 2006).

O único estudo relacionado a fase inicial de larvicultura e incubação de ovos de *L. anus* encontrado, trata-se da utilização de incubadora alternativa, descrita por Rosa (2015), utilizando garrafa plástica com capacidade para 5 litros, tendo sua base cortada formando uma taça/funil, quando apoiada com sua tampa para baixo, uma bomba submersa foi ligada a uma bateria 12 V e uma mangueira adaptada na entrada da tampa da garrafa, enquanto a bomba estava submersa no rio, a “incubadora” cumpria a função de circulação de água, pode incubar ovos coletado dos lábios de macho de cascudo-viola, o que oportunizou o acompanhamento do desenvolvimento larval da espécie, por um breve período, conforme demonstrado na Figura 4.

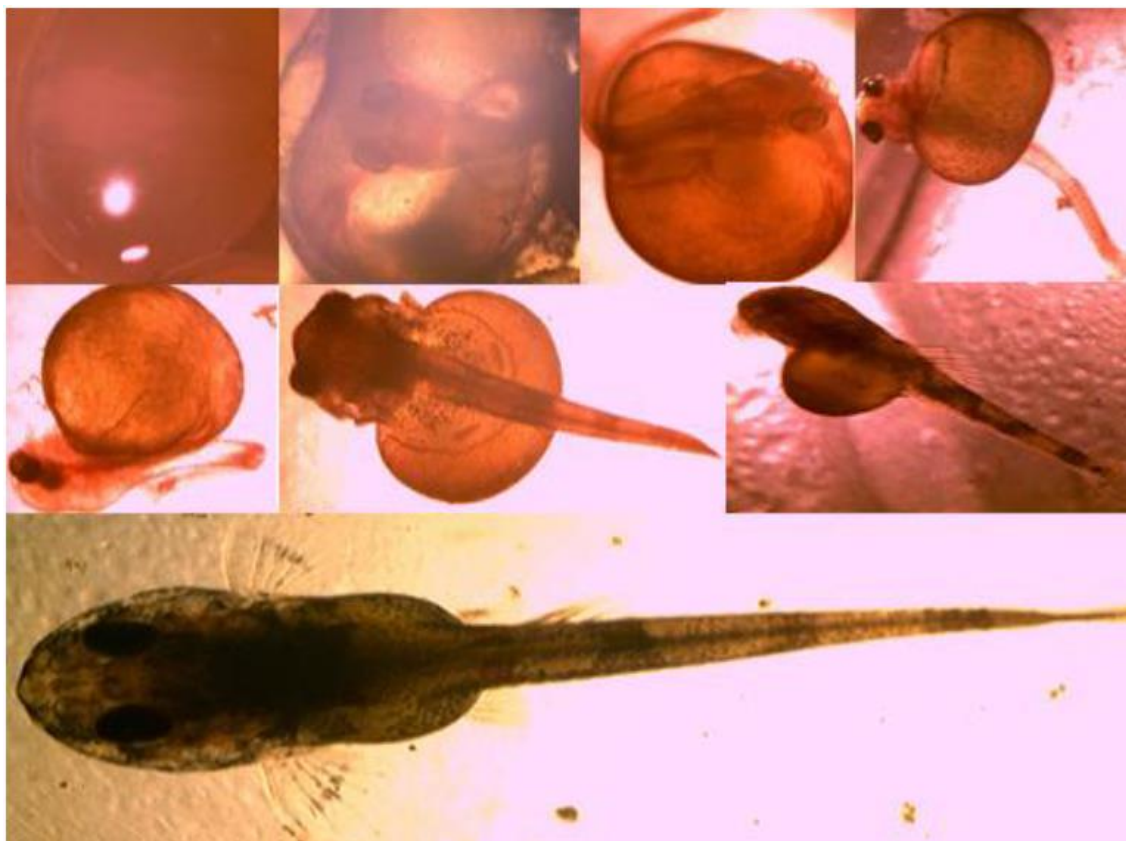


Figura 4. Desenvolvimento larval de cascudo-viola (*Loricariichthys anus*). Foto: Daniela Pereira da Rosa.

3.2 Aspecto econômico

A pesca e consumo da viola foi iniciada no bairro Arquipélago, do município de Porto Alegre/RS, mais especificamente, a localidade chamada de Ilha da Pintada. Neste local historicamente ocorre uma grande concentração de pescadores, inclusive abrigando a Colônia de Pescadores Z5, a qual abrange toda a região metropolitana. Os pescadores capturavam as conhecidas violinhas, em redes onde buscavam capturar pintados (*Pimelodus maculatus*); entretanto, por se tratar de um peixe de difícil processamento, por apresentar placas ósseas, não eram aproveitados, ao invés disso os pescadores apenas as sacrificavam (quebrando a cabeça) para retirar da rede e atiravam novamente para água.

Em meados dos anos 2000, o também pescador e peixeiro, Luiz Carlos de Azevedo Cosme, observando a baixa nos estoques pesqueiros e a alta demanda por um pescado de boa qualidade, oriunda da pesca, solicitou a outro pescador Leoní Jardim, que processasse, cerca de 10 kg de viola para uma tentativa de comercialização. O pescador processou e entregou o volume solicitado, como demonstrado na Figura 5. Então esses filés foram vendidos a um comprador que

possuía um quiosque as margens da praia de Capão da Canoa/RS. Os files foram vendidos e desde então o comércio sobre o filé vem se acentuando, gradativamente, ao longo dos anos (informação verbal)³.



Figura 5. Imagem de filés de cascudo-viola (*Loricariichthys anus*) processados, sendo embalado para comercialização. Foto: Douglas Cosme Selle.

Atualmente a espécie viola já é largamente apreciada no sul e sudeste do Brasil e possui alto valor agregado ao ter seu filé consumido em forma de petiscos, principalmente em bares, restaurantes e quiosques de praia. Justamente pelo seu alto valor de mercado, a busca pela captura da espécie vem se acentuando a cada ano, aumentando de forma significativa a pressão de pesca dessa espécie.

Em pesquisa realizada pelo autor em fevereiro de 2023, foram consultados pescadores artesanais, peixarias, supermercado e restaurantes da região metropolitana de Porto Alegre/RS, obtendo-se as informações de faixas de preço dos filés vendidos congelados (*in natura*) e servidos em porções (frito), conforme descrito na Tabela 1.

³ Fala do Eng. Agrônomo Douglas Cosme Selle, piscicultor e neto de pescador do rio Guaíba.

Tabela 1. Locais de venda, compradores e valores de filés de cascudo-viola (*Loricariichthys anus*), congelada para ser servida em porções fritas.

Local de venda x compra	Tamanho da porção comercializada	Valor em R\$/kg
Pescador x Consumidor	1,0 kg	R\$ 30,00 a R\$ 40,00
Pescador x Revendedor	1,0 kg	R\$ 20,00 a R\$ 30,00
Peixaria x Consumidor	1,0 kg	R\$ 35,00 a R\$ 50,00
Supermercados x Consumidor	0,4 kg	R\$ 65,00
Restaurantes x Consumidor	0,5 kg	R\$ 80,00 a R\$ 140,00

A partir dos dados apresentado, é possível constatar que o filé do pescado destaca-se dos demais valores obtidos pela comercialização de peixes oriundos da pesca, tanto de peixes inteiros como filés, os quais variam entre R\$ 8,00 e R\$ 20,00. O que torna ainda mais atrativo a produção da espécie em cativeiro, possibilitando a obtenção de um alto valor agregado ao seu pescado.

O beneficiamento do pescado em questão, em grande parte das vezes, acaba sendo realizado de forma precária, sem cuidados mínimos de higiene e, tampouco, inspeção sanitária. A maior parte dos pescadores já entregam para os clientes finais ou atravessadores, os filés beneficiados. Sabendo-se que o beneficiamento ocorre dentro das embarcações pesqueiras ou em portos as margens dos locais de pesca, locais onde raramente se terá acesso a água potável para devida limpeza dos peixes antes da entrega (Douglas Selle, informação verbal) ⁴.

A pesca da viola é realizada em locais relativamente distantes da moradia dos pescadores, por esse motivo, além da escassez de água potável, também se percebe a ausência de gelo, tanto após a retirada do peixe das redes e seu alojamento temporário nas caixas plásticas, como após o processamento dos files e seu armazenamento nas caixas de isopor, que os mantem “protegidos” até a chegada nas casas dos pescadores, onde geralmente são embalados em porções de 1 kg e levados aos congeladores (Douglas Selle, informação verbal)⁵.

Atualmente, no estado do Rio Grande do Sul existem cooperativas e frigoríficos capacitados e já processando a violinha, a exemplo da Cooperativa dos pescadores de São Lourenço do Sul/RS, a indústria Le Gour Alimentos, localizada em

⁴ Fala do Eng. Agrônomo Douglas Cosme Selle, piscicultor e neto de pescador do rio Guaíba.

⁵ Fala do Eng. Agrônomo Douglas Cosme Selle, piscicultor e neto de pescador do rio Guaíba.

Garibaldi/RS, além da indústria Japesca, localizada em Porto Alegre/RS, que recentemente iniciou o processamento da espécie, a denominando em sua embalagem como “filé de cascudo”. Sendo assim, com a inserção da viola no mercado aquícola poderia, também, minimizar possíveis problemas de contaminação do produto final, além de possibilitar à inspeção dos produtos e, conseqüentemente, torna-los de melhor qualidade, pois seriam respeitadas as normas de processamento e cadeia de frio (MAPA 2007), desde o início do processo de captura nos viveiros, até a sua distribuição a revendedores e consumidores finais. Podendo-se, até mesmo, expandir a abrangência do mercado.

Sabendo-se que o pescado já é processado de forma industrial, esta condição poderá incentivar os produtores a aderir ao cultivo da espécie, pois a comercialização poderá ser realizada em escala, junto a outras espécies cultivadas na região.

3.3 Captura das espécies nativas

Quanto ao aspecto ambiental, atualmente toda viola comercializada é oriunda da pesca artesanal, sendo que sua captura não é proibida, segundo as portarias MMA nº445/2014 e MMA nº163/2015. Entretanto, com a redução da disponibilidade de peixes, os pescadores utilizam as redes de emalhar com malhas cada vez menores, variando entre 20 e 30 mm, as quais são proibidas (Instrução Normativa IBAMA nº43/2004), o que acaba pondo em risco a sustentabilidade deste importante recurso pesqueiro, pois aumenta consideravelmente o número de peixes necessários para se obter 1 kg do filé processado, além da diminuição do tamanho dos filés, que o torna menos atrativo aos consumidores (informação verbal)⁶.

Além da captura de violas muito pequenas, a pesca com essas malhas de rede acaba por capturar diversas outras espécies que, muitas vezes, são abatidas e não aproveitadas, devido ao seu tamanho inferior ao exigido pelo mercado consumidor. Isso pode ser identificado ao se ter contato com pescadores artesanais da região metropolitana de Porto Alegre, os quais, em sua maioria, adaptaram suas redes para a pesca da viola, utilizando apenas entalhamento (corda onde a rede é entalhada) na parte inferior dos panos da rede, fazendo com que a mesma permaneça, o máximo possível, ao fundo do local de pesca quando armada, pois esta espécie possui hábitos bentônicos. Essa modificação já reduziu significativamente a captura das demais

⁶ Fala do Eng. Agrônomo Douglas Cosme Selle, piscicultor e neto de pescador do rio Guaíba.

espécies, mas eventualmente ainda são capturadas em grandes quantidades de fauna acompanhante, que também possuam hábitos bentônicos ou que se alimentem próximo as margens e locais de baixa profundidade, quando as redes estão armadas (informação verbal)⁷.

Um fator que é de conhecimento dos agentes envolvidos no meio pesqueiro é a pesca predatória durante o período de defeso, sendo realizada por parte dos pescadores, seja por atraso dos benefícios fornecidos pelo governo federal (seguro defeso), o qual tem objetivo de reduzir essa ação, ou, até mesmo, pela baixa disponibilidade do pescado estocado e a necessidade de garantir a comercialização durante essa época de maior demanda, denominada de semana santa, quando ocorrem as maiores feiras de peixe e até mesmo a procura intensa por parte dos revendedores e fornecedores de alimentação pronta (p. ex.: restaurantes).

Nos meses que precedem a semana santa, não só os pescadores profissionais e artesanais buscam estocar peixes, mas também parte da população que pesca de forma irregular (profissionais, artesanais e amadores). Com essa atitude, o estoque pesqueiro reduz drasticamente e, com isso, boa parte dos peixes capturados não completam o ciclo reprodutivo (informação verbal)⁸.

3.4 Perspectivas para a produção de viola

A realização da pesquisa sobre a reprodução da viola irá colaborar de forma significativa para o desenvolvimento da aquicultura no Rio Grande do Sul, por se tratar de uma espécie nativa, com alto valor agregado e grande aceitação pelo mercado consumidor, além de possibilitar a produção consorciada com outras espécies já cultivadas, uma vez que, está se propondo a produção de uma espécie com hábitos alimentares bentônicos (GONÇALVES; OLIVEIRA; LIMA JR, 2010). Sendo assim, os peixes em cultivo poderiam aproveitar-se de detritos e ração excedente dos tratamentos, seguindo o exemplo da integração entre a tilápia e camarão, já largamente difundida, tornando ainda mais sustentável a sua produção, além de gerar renda e contribuir para a diminuição da pressão de pesca desta espécie e de outras capturadas como fauna acompanhante.

⁷ Fala do Eng. Agrônomo Douglas Cosme Selle, piscicultor e neto de pescador do rio Guaíba.

⁸ Fala do Eng. Agrônomo Douglas Cosme Selle, piscicultor e neto de pescador do rio Guaíba.

Há relatos de piscicultores que capturaram em seus viveiros de cultivos exemplares de *L. anus* com tamanhos muito superiores aos pescados na natureza, uma vez que nas áreas de cultivo se tem uma abundância de alimentos, do qual a viola pode aproveitar para o seu consumo e desenvolvimento. Esses peixes capturados em locais de cultivo normalmente entram nos sistemas por meio de águas de abastecimento ou são levadas por outros vetores, uma vez que não há registro de sua produção ou reprodução em cativeiro, sendo esse o principal gargalo para início do cultivo controlado.

A reprodução induzida de peixes em cativeiro é uma ferramenta fundamental para o desenvolvimento da piscicultura mundial. No Brasil com o início do cultivo de espécies nativas, grande parte dos alevinos e juvenis que povoavam os viveiros eram advindos da captura na natureza, provocando danos ao ambiente natural e dificultando o processo de cultivo. Parte dos peixes, não migradores, que habitam ambientes lênticos, eram preferidos ao cultivo, pois reproduzem-se naturalmente, sem a necessidade de indução hormonal. Porém, o desenvolvimento desses peixes é mais lento devido ao gasto de energia para manutenção das gônadas e comportamentos reprodutivos (HUET, 1978).

No mercado nacional e internacional existe uma série de opções de hormônios indutores da liberação de gametas, como por exemplo: Ovopel®, Ovaprim®, hCG, Hipófise de salmão, dentre outros, porém o principal produto utilizado e que se obtém maior sucesso ainda é a Hipófise de carpa, muito embora seu alto valor de mercado faz com que produtores busquem alternativas, como hipófise de pato, rã, frango, entre outros animais (NWADUKWE, 1993; STREIT JR., 2002).

Atualmente, o peixe nativo mais produzido no Brasil é o Tambaqui (*Colossoma macropomum*), com sua produção e comercialização concentrada na região Centro-oeste e Norte, onde é largamente apreciado por possuir carne saborosa e apresentar excelente desempenho zootécnico. Entretanto, no Brasil é possível listar outras espécies nativas migradoras, produzidas em escala comercial, e que também necessitam de indução para liberação de gametas, como o dourado (*Salminus brasiliensis*), o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), o surubim (*Pseudoplatystoma sp.*), o piauçu (*Leporinus macrocephalus*), o curimba (*Prochilodus lineatus*) (ZAMBONI FILHO, 2007).

No Rio Grande do Sul, a espécie nativa alvo de estudos para a produção em cativeiro, tanto por universidades, como por instituições de pesquisa, é o jundiá (*Rhandia quelen*). Possui ótimo desempenho zootécnico, bom rendimento de carcaça, filé sem espinhas intramusculares e com alta aceitação do mercado, pois é muito apreciada pela população da região sul. Além do jundiá, podemos também citar algumas espécies nativas, como a traíra (*Hoplias malabaricus*), a piava (*Leporinus obtusidens*), o lambari (*Astyanax sp.*), dentre outras espécies menos expressivas em relação a números de produção, quando comparadas às espécies exóticas como a tilápia, que já estão com pacotes tecnológicos mais desenvolvidos e estabelecidos, além de possuir um forte trabalho de melhoramento genético, o qual, nas espécies nativas do Rio Grande do Sul, ainda é inexistente (ZAMBONI FILHO, 2007).

Em 2019, nas dependências do Laboratório de Ictiologia do Instituto de Meio Ambiente de Mato Grosso do Sul (Imasul), pesquisadores realizaram a primeira reprodução em cativeiro de *Loricaria coximensis*, também conhecida como cascudo-viola (Figura 6). Porém, essa é uma espécie endêmica do pantanal sul-mato-grossense, medindo apenas 9,6 cm e ocorrendo apenas no Rio Coxim, que está ameaçada de extinção. Por possuir características semelhantes a espécie poderia servir como base para o desenvolvimento deste estudo. Entretanto, como ainda não há publicações aprofundadas sobre o feito, os pesquisadores preferem manter sigilo sobre as técnicas utilizadas (PRESTES, 2019).

Não há relatos sobre outras reproduções em cativeiros de loricarídeos semelhantes à violinha, apenas de cascudos dos gêneros *Rhinelepis sp.* e *Hypostomus sp.*, os quais não se assemelham aos hábitos reprodutivos de *L. anus*, distinguindo-se principalmente pelos hábitos de desova parcelada e a ausência de cuidados parentais (ZAMBONI FILHO, 2007).



Figura 6. Imagem demonstrando o desenvolvimento embrionário de *Loricaria coximensis*. Foto: IMASUL, 2019.

3.5 Caracterização sexual

Com a necessidade de se obter informações básicas sobre a biologia reprodutiva da viola, principalmente ao se buscar alternativas para produção e reprodução em cativeiro, a caracterização sexual é de fundamental importância para o desenvolvimento de novos pacotes tecnológicos (LÓPEZ, 2005). Desta forma, avaliara qualidade e quantidade dos gametas, tanto masculino como feminino, é fundamental para se estabelecer um plano de ação sobre a reprodução, além de que, em peixes, os estudos acabam focando nos gametas femininos e deixando de lado os estudos do sêmen (RURANGWA et al., 2004).

Para loricarídeos, os estudos relacionados a aspectos reprodutivos são focados, principalmente, em espécies com fins de ornamentação, por possuir maior valor agregado e alta demanda, a exemplo do cascudo zebra (*Hypancistrus zebra*), espécie com maior valor de mercado dentre os cascudos e com demanda, inclusive

para exportação, porém com raros estudos relacionados a sua viabilidade reprodutiva (VIANA, 2018, 2022; CALDAS, 2019, 2021).

A caracterização dos espermatozoides, levando-se em consideração a análise do volume, concentração, motilidade e vigor, além das características morfológicas, estão diretamente relacionadas à avaliação da qualidade espermática, além de gerar informações que são relevantes para seu uso na fertilização artificial (ROUTRAY, 2007).

O processo de determinação do dimorfismo sexual é de fundamental importância, tanto pra caracterização taxonômica, como para manejos de espécies produzidas em cativeiro, já que em algumas espécies as características sexuais dimórficas podem ser tão destoantes, que machos e fêmeas podem ser confundidos com espécies diferentes (CAMERON, 1992). De acordo com Darwin (1871), o dimorfismo sexual deve levar em consideração os traços anatômicos ou morfométricos que funcionam na busca por parceiros na época do acasalamento sendo, de modo geral, toda diferença anatômica entre sexos de uma espécie, que não seja as dos órgãos diretamente envolvidos no processo reprodutivo (gônadas e órgãos copulatórios).

Em peixes já foram descritas uma grande variedade de características que podem ser levadas em consideração para determinação do dimorfismo sexual, principalmente relacionadas a modificações sofridas durante o período reprodutivo, podendo citar os barbilhões nasais e maxilares, os quais podem chegar ao dobro do comprimento em machos (ZAKARIA, 1992). As nadadeiras são frequentemente observadas como pontos de diferenciação ligadas ao sexo, pela sua forma, tamanho, número de raios, presença de espinhos e filamentos (MOLINAR ET AL., 1998; PEZZANITE & MOLLER, 1998; IKEJIMA & SHIMIZU, 1998; GARZON & ACERO, 1988). Variações na morfologia da cabeça também podem estar relacionadas ao sexo de uma mesma espécie, apresentando tamanhos distintos, presença de apêndices, formato, etc. (HASTINGS, 1991). A mudança de coloração é observada em diversas espécies, porém deve-se ter cuidado para ser distinguida de efeitos causados pelo ambiente em que a espécie está inserida (BURGESS, 1989).

Os estudos sobre a biologia reprodutiva de peixes podem auxiliar na tomada de decisões sobre as espécies a serem cultivadas em cativeiro, além de tornar plausível a inserção de uma nova espécie na aquicultura ou em programas de

conservação (ANDRADE, 2003). As condições endógenas e exógenas podem afetar a maturação sexual e processo de desova dos peixes, por exemplo, em sistemas de aquicultura, normalmente se tem ambientes lênticos, onde os animais perdem estímulos naturais externos, podendo alterar sua resposta endócrina e modificar a maturação gonadal, fazendo com que os ovários atinjam apenas o estágio de vitelogenese completa, sendo necessário a simulação dos estímulos naturais de forma artificial, seja pela manipulação do ambiente, aceito por algumas espécies, ou com a indução hormonal, para que ocorra a reprodução (ANDRADE, 2003).

O índice gonadosomático (IGS) é um método qualitativo utilizado para determinação do período reprodutivo de uma espécie, o qual expressa a razão entre o peso das gônadas, masculinas ou femininas, e o peso total corporal (VAZZOLER, 1996). O IGS é uma análise complementar na determinação do período reprodutivo de peixes, pois a maturação das células reprodutivas faz com que ocorra a ampliação do tamanho das gônadas (principalmente em fêmeas) e quantidade de óvulos no interior das gônadas, as tornando mais pesadas durante o período reprodutivo (PEREIRA et al., 2004).

As gônadas em peixes teleósteos, de modo geral, estão distribuídas em pares, com formato alongado e localizados na porção dorsal da cavidade abdominal, sendo cada gônada posicionada de um lado da coluna vertebral, prolongando-se no sentido craniocaudal, fundindo-se em apenas um oviduto e estendendo-se até o orifício urogenital (RODRIGUES et al., 2005). Macro e microscopicamente é possível se observar cinco estádios distintos de maturação gonadal, são eles: Imaturo; Repouso; Maturação inicial; Maturação avançada/maduro; e desovado (BAZZOLI, 2003).

O estudo histológico das gônadas femininas permite distinguir os diferentes tipos de células germinativas, em seus diferentes graus de maturação, podendo-se distinguir as fases de acordo com a proporção de cada estágio do ciclo ovariano (GODINHO et al., 1977). A ovogênese é o processo no qual as células germinativas se desenvolvem, desde as células primordiais até oócitos, prontos para fertilização (GODINHO, 2007). O conhecimento da biologia ovariana é um fator fundamental para que se entenda a reprodução natural das diferentes espécies de peixes (BAZZOLI & RIZZO, 1990).

Os testículos dos peixes teleósteos estão localizados na cavidade celomática, dorsalmente ao tubo digestivo e ventro-lateralmente ao longo da bexiga natatória,

estando preso a bexiga natatória e à parede celomática pelo mesórquio (ANDRADE, 1980). Assim como os ovários, apresentam distintas fases de maturação, podendo ser analisados de forma macroscópica ou microscópica, as cinco fases são: Imaturo; Repouso; Maturação inicial; Maturação avançada/maduro; e Espermeado (BAZZOLI, 2003).

Os testículos dos peixes se assemelham a bolsas, sendo formados por uma camada germinal de células espermatogênicas (espermatócitos), as quais produzem os espermatozoides pelo processo da espermatogênese (SALLUM, 2002). A espermatogênese pode ser de duas formas para peixes teleósteos: a semisística, onde o desenvolvimento ocorre parcialmente fora do cisto, e a cística, a qual o processo ocorre, em grande parte, no interior de cistos germinativos (LACERDA, 2006). Normalmente, a estrutura observada na histologia se apresenta em organização tubular seminífera cística, podendo ser observado dois compartimentos, o intersticial e o tubular, onde no primeiro estão localizados os vasos sanguíneos, fibras nervosas, células e fibras do tecido conjuntivo, além das células de Leyding, com a função esteroideogênica (LACERDA, 2006).

Os espermatozoides dos peixes encontram-se inativos dentro das gônadas, uma vez que o fluido seminal não só imobiliza os espermatozoides, como também oferece proteção (COSSON et al., 1999). De modo geral os espermatozoides dos peixes teleósteos de água doce começam a se mover quando submetidos a solução hipotônica (<300 mOsm/kg) e exibem alta mobilidade (como % de espermatozoides móveis) em água doce (4 mOsm/kg) (SUZUKI, 1980). A determinação dos valores cinéticos auxilia na obtenção de dados sobre a qualidade do sêmen, em especial dos espermatozoides de peixes, já que os valores cinéticos estão diretamente ligados a capacidade de fecundação entre os gametas (FERRAZ et al., 2014).

A primeira análise espermática em peixes foi realizada em sêmen de truta através de um estroboscópio com câmera gravadora (COSSON, 1985). Com recente aplicação para análises de espermatozoides de peixes, a ferramenta Computer-Aided Sperm Analysis (CASA), capta e digitaliza imagens estáticas e dinâmicas de espermatozoides através da utilização de um software (BOYER et al., 1989). Com a automatização pode-se realizar diversas análises objetivas, com maior agilidade e acurácia dos resultados, já que a análise vem sendo realizada por avaliação subjetiva (MOTIMER, 1997).

Os parâmetros comumente obtidos através de analisadores de sêmen computadorizados são: motilidade (MOT), velocidade do percurso curvilíneo (VCL), velocidade do percurso médio (VAP), velocidade em linha reta (VSL), retilinearidade (STR), linearidade (LIN), oscilação (WOB), e frequência de batimento cruzado (BCF) (MOTIMER, 1997; VERSTEGEN et al., 2002).

Os parâmetros quantitativos, além de avaliações sistemáticas dos diversos parâmetros que podem influenciar na fertilidade, quando estudados, podem favorecer os procedimentos de reprodução em cativeiro, fazendo com que os índices de fertilização sejam melhorados e, até mesmo, aumentando as possibilidades de sucesso da inserção da espécie na aquicultura ou em programas de preservação (FAUVEL, 2010). A concentração, segundo Cosson et al. (2008) é considerado um dos parâmetros mais usados para avaliação da qualidade do sêmen e sua capacidade de fertilizar óvulos.

A análise do volume e da concentração espermática, podem ser indicadores da capacidade reprodutiva dos machos, principalmente quando são associados às outras análises. Mesmo não sendo um parâmetro específico para mensuração da capacidade fertilizante, apresentam diferenças entre as espécies e, até mesmo, entre indivíduos de uma mesma espécie (KOWALSKI & CEJKO, 2019).

As características morfológicas e funcionais dos espermatozoides são de extrema importância para elaboração de estudo básico sobre a biologia reprodutiva e para a produção em cativeiro de qualquer espécie de peixe, além de fundamentais para o desenvolvimento de estratégias para a conservação de espécies nativas (LAHNSTEINER, 2000). O espermatozoide de peixes teleósteos divide-se, basicamente, em três partes, denominadas de cabeça, peça intermediária e flagelo, sendo o flagelo responsável pelo movimento do espermatozoide, além de grande parte das espécies não possui acrossoma, no interior da cabeça (COSSON, 2019).

A morfologia espermática determina a quantidade de espermatozoides considerados normais e os que apresentam anormalidades. Mesmo não existindo uma classificação para anormalidades espermáticas específicas de peixes, visto que os parâmetros utilizados são os mesmos dos bovinos (adaptado de BLOM, 1973), as principais anormalidades avaliadas nos espermatozoides de peixes de água doce são: cauda quebrada, cauda fortemente enrolada, cauda enrolada distalmente, cauda

curta, cauda dobrada, gotas citoplasmáticas proximal e distal, cabeça solta, cabeça degenerada, microcefalia e macrocefalia.

3.6 Reprodução inédita em cativeiro

Até o momento não há relato sobre a reprodução em cativeiro do cascudo-viola *L. anus*. Sendo assim, o trabalho proposto servirá como base para se obter informações relevantes de sua biologia reprodutiva, que servirão de base para um futuro protocolo de reprodução em cativeiro para a espécie.

3.7 Repovoamento

Repovoamento, segundo Agostinho et al. (2007), é utilizado como sinônimo de povoamento, peixamento ou, até mesmo, pelo termo técnico estocagem que vem a ser a soltura deliberada de peixes provenientes de outros sistemas naturais ou de cultivo em um corpo d'água onde a espécie já povoava previamente. O repovoamento vem sendo utilizado como medida mitigadora de possíveis danos aos recursos pesqueiros, sejam eles causados pela pressão de pesca das obstruções dos recursos hídricos, que impedem ou dificultam a migração dos peixes, e/ou de possíveis desastres ambientais, onde ocorre a mortalidade de um grande volume de espécies aquáticas.

Atualmente, no Brasil, existe uma série de projetos e estudos sobre o repovoamento de ambientes aquáticos em andamento, uma vez que sua realização depende de uma série de fatores e condicionantes que precisam ser seguidas. Um dos principais impactos pode ocorrer com repovoamentos do tipo introdutórios, ou seja, com a inserção de espécies não nativas do ambiente a ser povoado. Mundialmente tem-se relatos e comprovações práticas de que a introdução de espécies exóticas no ambiente natural é extremamente prejudicial ao ecossistema, sendo considerada a segunda principal causa de extinção de espécies nativas, perdendo apenas para a degradação dos habitats (AGOSTINHO, 2007).

No estado do Rio Grande do Sul, a CEEE possui um projeto de repovoamento para repor 175 mil peixes nos reservatórios da companhia, os quais estão localizados em sua maioria, no Rio Jacuí. Até o dia 03 de outubro de 2019, o grupo já havia colocado 65 mil alevinos, sendo nesta data realizada a soltura de 6 mil jundiás (*Rhandia quelen*) e 18 mil grumatãs (*Prochilodus lineatus*) no reservatório Passo Real,

na cidade de XV de Novembro/RS. Essas ações tornam esse um programa de sucesso realizado no estado (CEEE, 2019).

O Rio Uruguai, que delimita a fronteira do Brasil com Argentina e divisa dos estados do Rio Grande do Sul com Santa Catarina, também é alvo de diversos programas de repovoamento, com intensas tentativas de reestocagem do dourado (*Salminus brasiliensis*), pois a espécie está com a sua pesca proibida por constar na lista de espécies ameaçadas de extinção. Entretanto, por se tratar de uma espécie carnívora, com hábitos predatórios, a opção de repovoamento deverá ser adotada apenas em casos de extrema necessidade (UNICHAPECÓ, 2013).

Ao se tratar de repovoamento com espécies nativas, deve-se levar em consideração que, caso não sejam tomadas as devidas precauções, esta inserção poderá causar a degeneração genética das espécies nativas, comprometendo a viabilidade dos genes dos espécimes já habitantes do local e, conseqüentemente, de suas futuras gerações (AGOSTINHO, 2004). Essa precaução deve ser levada em consideração no momento da seleção das matrizes, as quais darão origem aos alevinos futuramente soltos nos ambientes naturais. Um exemplo dos danos que poderão ser causados pela falta de variabilidade genética é o caso de as matrizes não possuírem resistência ou, até mesmo, serem sensíveis a determinado patógeno presente no local do repovoamento. Nesse caso, grande parte dos peixes soltos poderiam não resistir e morreriam, e os que restassem, repassariam essas características à sua prole, podendo a reprodução ocorrer entre os peixes do repovoamento, ou pior, com os peixes presentes no habitat e assim sucessivamente, até que a espécie sucumba (AGOSTINHO, 2007).

Ao pensar na espécie cascudo-viola proposta para o atual estudo, a realização de sua reprodução em cativeiro tornaria possível o repovoamento da espécie em locais onde os estoques estivessem sobrepescados. O desenvolvimento e estabelecimento de um pacote tecnológico para reprodução possibilitaria a sua replicação em escala, não só visando a aquicultura, mas também essa importante ferramenta de conservação ambiental que é o repovoamento.

4 HIPÓTESES E OBJETIVOS

4.1 Hipóteses

Ho – As gônadas de cascudo-viola não possuem diferentes estágios de maturação ao longo do ano, não podendo ser caracterizada o período reprodutivo da espécie.

Ha – As gônadas de cascudo-viola possuem diferentes estágios de maturação ao longo do ano, podendo ser caracterizada o período reprodutivo da espécie.

4.2 Objetivo Geral

Avaliar as características morfológicas e fisiológicas para definição do dimorfismo sexual, histológica e cinética das gônadas e gametas masculinos e femininos do cascudo-viola (*Loricariichthys anus*) pelo período de um ano, a fim de identificar seu período reprodutivo.

4.3 Objetivo Específico

- a) Identificar o dimorfismo sexual da espécie através da morfologia externa e Índice Gonadossomático;
- b) Comparar por histologia as gônadas da espécie, para identificar o período reprodutivo de machos e fêmeas e o tipo de maturação das gônadas, se parceladas ou total;
- c) Analisar o sêmen da espécie para identificar cinética espermática durante o período reprodutivo (caso houver);
- d) Analisar o sêmen da espécie para identificar a concentração e morfologia espermática.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Os espécimes de *L. anus* foram coletados no Rio Guaíba (Figura 7), entre os municípios de Eldorado do sul e Porto Alegre (30°02'41.3"S 51°17'57.9"W), localizado na Região Hidrográfica da Bacia do Guaíba, com área de 482,2 km², com profundidade média de 2 metros, atingindo cerca de 12 metros no canal de navegação. A pluviosidade média do período foi de 96,08 mm e o acumulado de 1153 mm, temperatura média de 23,3°C (mínima 16°C/máxima 30°C); oxigênio dissolvido 5,17 mg/L; dureza 61,83 ppm; nitrito 0,08 ppm; amônia total 0,69 ppm e pH de 6,52.

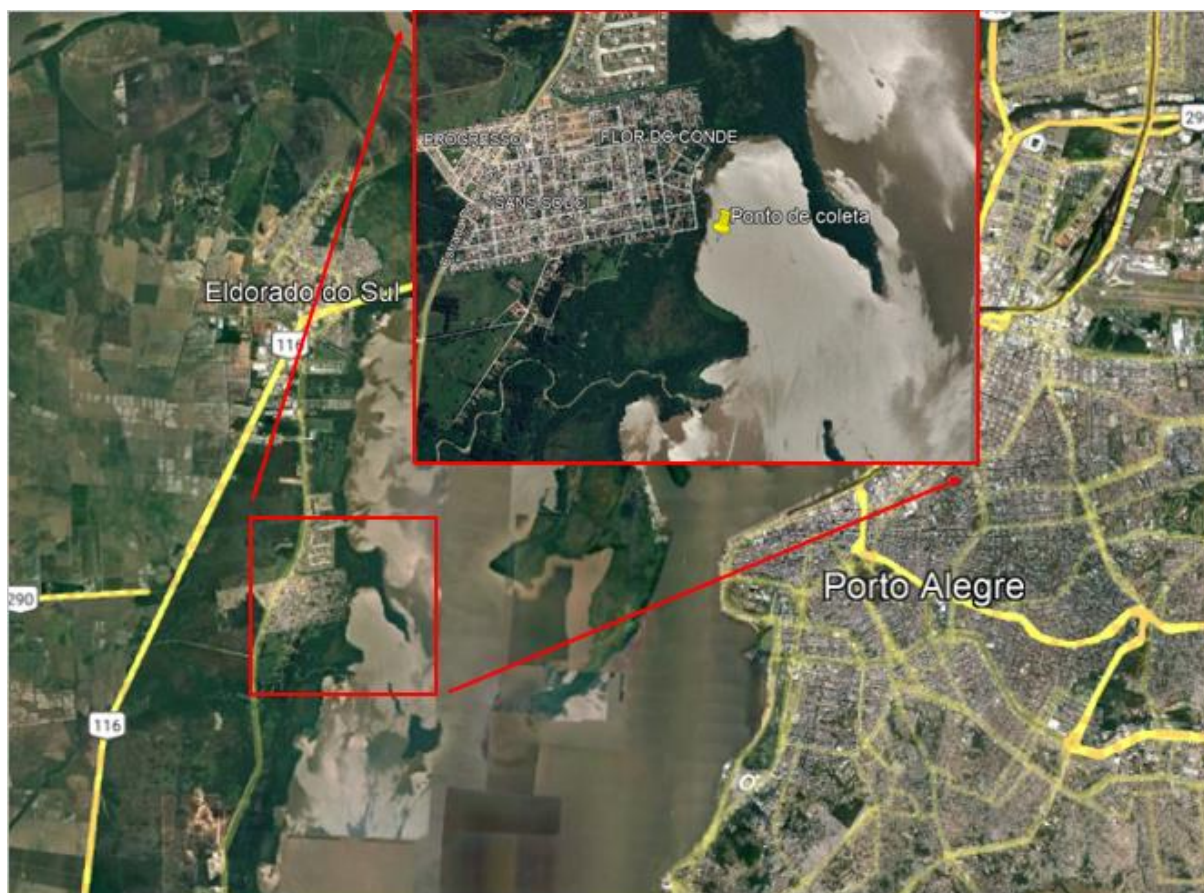


Figura 7. Mapa com a localização do ponto de coleta dos espécimes no rio Guaíba.

As coletas seguiram as normas e autorização ICMBio mediante requisição via Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO (autorização N° 80302-1), e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), com aprovação pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) sob registro de N° 42690.

5.1 Coletas

Foram coletados no rio Guaíba, entre novembro de 2021 e outubro de 2022, em média 6 machos e 6 fêmeas mensalmente, totalizando 144 animais ao final de 12 meses (Tabela 2). Os machos apresentaram um peso médio de $50,72 \pm 15,41$ g e comprimento o médio de $22,05 \pm 3,14$ cm. Quanto as fêmeas apresentaram um peso médio de $55,96 \pm 19,26$ g e $22,61 \pm 3,42$ cm média para o comprimento.

Os animais foram capturados no rio Guaíba, na localidade de Sans Souci, Eldorado do Sul/RS, próximo às margens do lago. Os animais foram capturados com uma rede específica para captura da espécie, sendo esta desenvolvida por pescadores artesanais da região metropolitana de Porto Alegre/RS. As 2 redes utilizadas possuíam comprimento de 50 metros cada, totalizando 100 m. Além disso como característica, são confeccionadas sem a presença de chumbada ou boia e possuíam malha de 20 mm entre nós e com altura total do seu pano de 50 cm.

O método utilizado para a captura foi o de rede de espera, posicionando a rede no local de deslocamento do peixe que por consequência, emalha-se na mesma. O intervalo entre a instalação e retirada das redes foi de 1:00 hora, e com isso evitar o estresse dos animais capturados e possíveis mortes desnecessárias, além de diminuir a possibilidade da captura da ictiofauna acompanhante. Para cumprir a aleatoriedade na coleta dos peixes, nos casos em que ocorreu a captura de mais espécimes do que a desejada, foram selecionados os seis primeiros peixes de cada sexo na retirada das redes, sendo os demais libertados, assim como a fauna acompanhante. Quando não foi possível capturar os 12 peixes (6 machos e 6 fêmeas) em um único intervalo de uma hora, adotou-se o manejo de alocar em caixa de transporte os peixes capturados e instalar novamente a rede durante o mesmo intervalo, até obtenção da quantidade necessária de animais. Este procedimento de mais de uma instalação das redes ocorreu apenas nos meses de junho à agosto, onde as temperaturas da água estavam mais baixas e por consequência menor deslocamento dos peixes.

No momento da coleta também foram registradas as seguintes informações pertinentes: dia, mês, ano, local, temperatura da água, teor de oxigênio dissolvido, pH, dureza, amônia e nitrito. Após a captura e durante o transporte, os animais foram mantidos em uma caixa térmica de transporte para peixe vivo (Trevisan®), de fibra de vidro com isolamento térmico no seu interior, com capacidade de 400 L de água, dimensões (C x L x A): 0,80 m x 0,60 m x 0,85 m. Foi utilizando água do próprio local

de coleta, controlado os seguintes parâmetros da água: pH, dureza, oxigênio dissolvido e amônia. Foi utilizado para oxigenação da água da caixa um sistema de injeção de oxigênio, incorporado 6 mg/O₂ à água pelo difusor para o deslocamento do local de coleta até o laboratório da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Tabela 2. Biometria do *L. anus* fêmeas (F) e machos (M) coletados para o estudo ao longo de um ano no lago Guaíba (média ± DP).

Mês/Ano	Sexo	Quantidade	Peso médio	Tamanho Médio
Nov/21	F	8	65,43 ± 18,57	23,88 ± 2,41
	M	6	35,71 ± 7,39	20,42 ± 1,35
Dez/21	F	6	59,75 ± 13,74	23,35 ± 2,06
	M	5	44,70 ± 1,89	21,62 ± 0,41
Jan/22	F	7	55,76 ± 14,22	22,50 ± 1,85
	M	4	42,58 ± 10,49	21,05 ± 1,64
Fev/22	F	7	60,29 ± 23,23	23,56 ± 2,41
	M	5	49,58 ± 9,83	22,38 ± 1,41
Mar/22	F	6	51,13 ± 16,15	22,60 ± 2,48
	M	6	57,06 ± 8,91	23,48 ± 1,08
Abr/22	F	6	59,41 ± 16,82	22,90 ± 1,67
	M	6	62,14 ± 13,87	23,47 ± 1,42
Mai/22	F	6	65,40 ± 31,66	23,85 ± 3,28
	M	6	60,86 ± 15,41	23,23 ± 1,44
Jun/22	F	6	63,05 ± 19,56	23,52 ± 2,15
	M	6	60,30 ± 13,08	23,55 ± 1,57
Jul/22	F	6	53,39 ± 20,05	22,45 ± 2,48
	M	6	61,84 ± 21,58	23,30 ± 1,93
Ago/22	F	6	52,62 ± 15,69	22,98 ± 2,69
	M	6	51,20 ± 13,05	22,43 ± 1,46
Set/22	F	6	44,60 ± 8,13	21,52 ± 1,22
	M	6	42,97 ± 6,12	21,32 ± 0,73
Out/22	F	6	45,57 ± 9,04	21,52 ± 1,35
	M	6	44,23 ± 9,39	21,68 ± 0,95

5.2 Processamento das amostras

O seguimento do estudo foi composto por quatro análises principais (Figura 8) tendo processos distintos entre eles, porém complementares. As etapas descritas a seguir foram conduzidas da seguinte forma:

1. Análise morfológica para identificação do dimorfismo sexual secundário;
2. Biometria dos peixes (pesagem e mensuração) e pesagem das gônadas para cálculo do índice gonadossomático;
3. Fixação das gônadas em glutaraldeído 2,5% para análise histológica, em que previamente foram coletadas amostras de sêmen para análise de cinética espermática (sendo diluídas em solução de Hanks);
4. Coletou-se amostras de sêmen diluídas em formol tamponado para a análise da morfologia e concentração espermática.

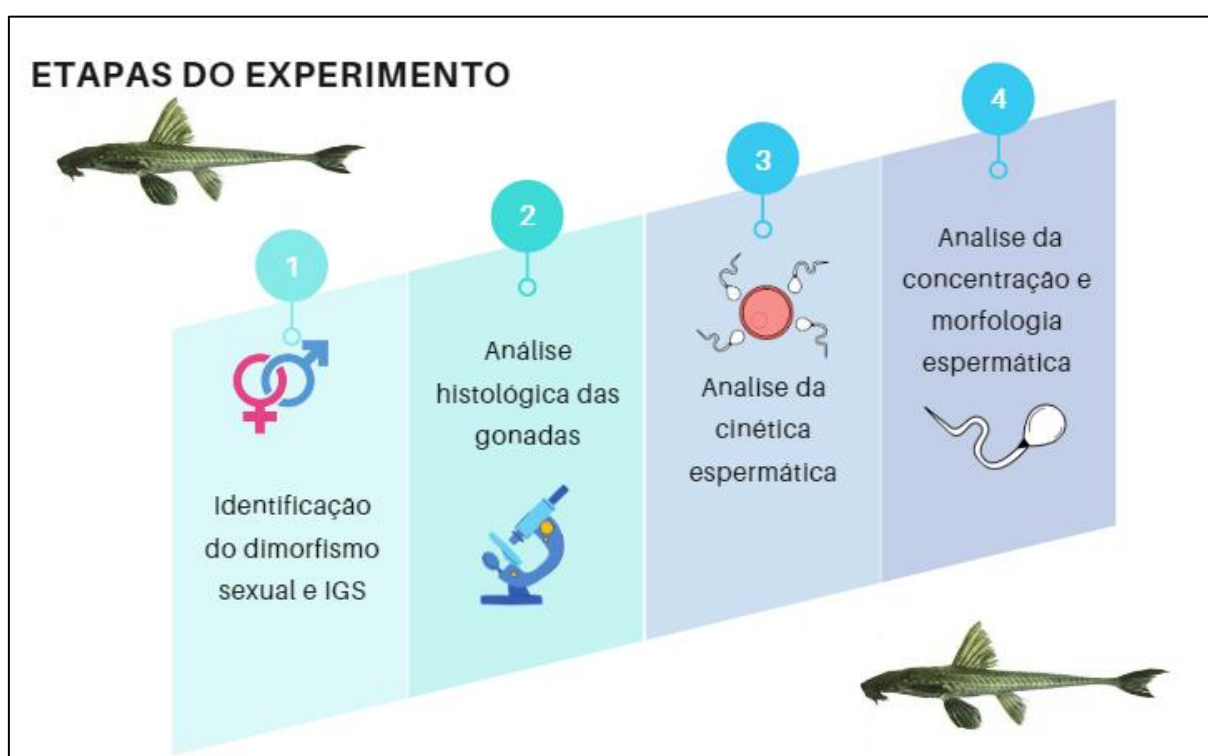


Figura 8. Infográfico das análises de validação realizadas durante o desenvolvimento do estudo com machos de *L. anus*.

Os parâmetros analisados para o dimorfismo sexual seguiram as informações observadas para outras espécies da família Loricaridae, a partir da morfologia externa com a confirmação do sexo após a dissecação (ROMAN, 2011; RAPP PY-DANIEL, L. H., COX FERNANDES 2005). Foi realizada a análise morfológica subjetiva, observando-se os principais pontos de dimorfismo evidentes para outras espécies da família (SOUSA, 2021).

No laboratório os peixes foram inicialmente, anestesiados em solução de eugenol (óleo de cravo diluído em 1:10 em álcool etílico) por um período de 300

segundos. Após o tempo supracitado, o estágio de anestesia profunda foi obtido para o início dos procedimentos, quando os animais apresentaram movimento opercular lento e regular previamente terem perdido do tônus muscular, bem como o equilíbrio (ROSS, L. G. & ROSS, B., 2008). Neste momento foi obtida a biometria dos animais. De forma subjetiva, por comparação entre indivíduos, observou-se as seguintes características: papilas urogenitais, nadadeiras peitorais e dorsais, largura e comprimento craneano, comprimento da caudal e presença de filamentos, lábios inferiores e superiores e volume do abdômen.

Dentre os exemplares analisados, os únicos parâmetros que apresentaram distinção entre os sexos foram o comprimento total do lábio inferior (CTLI) e a coloração dos lábios inferiores e superiores. O parâmetro CTLI foi mensurado com utilização de paquímetro (0,1 mm), medindo-se desde o orifício bucal até a extremidade caudal do lábio inferior. Já a coloração dos lábios foi classificada em 3 diferentes grupos (Figura 9), denominados da seguinte forma:

1. Normal – quando a coloração se apresentou esbranquiçada, com a mesma tonalidade da região dos opérculos branquiais e ventral;
2. Bordas escuras – quando apenas as laterais, esquerda e direita, porção inferior e/ou superior do lábio apresentaram escurecimento;
3. Perímetro escuro – quando o lábio inferior apresenta escurecimento nas extremidades e região central.

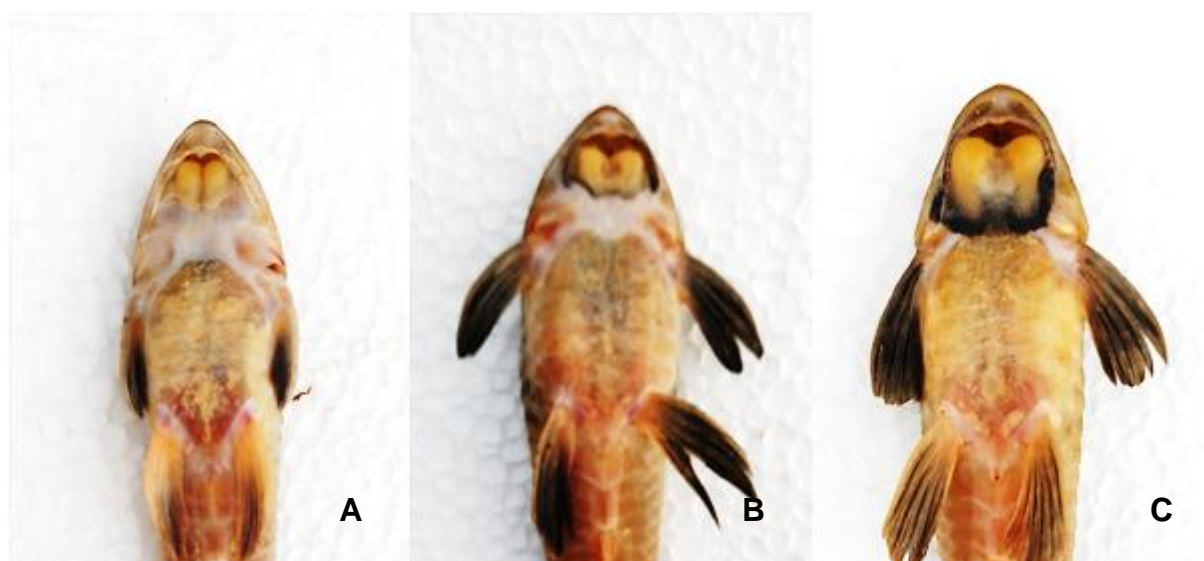


Figura 9. Imagens exemplificando os três grupos utilizados para distinção de coloração de lábios superiores e inferiores do cascudo-viola (*Loricariichthys anus*): A) exemplar com lábio Normal; B) exemplar com Bordas escuras dos lábios inferior e superior; e C) exemplar com o Perímetro escuro dos lábios inferiores e superiores.

Após a análise morfológica todos os animais foram eutanasiados, com uma secção medular com bisturi e, em seguida, identificado o sexo pela observação macroscópica das gônadas. Para o cálculo do Índice Gonadossomático (IGS) pesou-se individualmente o par de gônadas de cada animal, em balança de precisão (0,001 g). Posteriormente, IGS foi obtido pelo Peso das gônadas/Peso total do animal x 100), onde é obtida a razão (%) entre o peso total do animal e o peso da gônada (VAZZOLER, 1996). Esses valores foram calculados para machos e fêmeas separadamente, mês a mês, sendo possível identificar o período reprodutivo da espécie neste local.

Após o processo de pesagem gonadal, as mesmas foram fixadas em Glutaraldeído 2,5%, posteriormente realizado o processo de desidratação com a imersão sucessivas em álcoois de graduação crescente (70; 80; 95 e 100%). Em seguida, as gônadas foram submetidas ao procedimento de inclusão em paraplast (Surgipath Paraplast Plus, Leica), em três passos: pré-infiltração (50% xilol / 50% paraplast), infiltração (20% xilol / 80% paraplast) e inclusão (100% paraplast). O material foi seccionado a 5 µm em micrótomo rotativo manual (LUPETEC, MRP, 2015) equipado com lâmina de aço. As lâminas histológicas obtidas foram coradas em Hematoxilina e Eosina e depois analisadas em microscópio óptico (Eclipse, NIKON). A documentação fotográfica foi realizada por meio da câmera digital Android 5.1.

De acordo com a classificação de Brown-Peterson et al. (2011), com base na análise da frequência de células germinativas presentes nas gônadas associada às mudanças do epitélio germinativo para ambos os sexos, machos e fêmeas, definiu-se a maturação gonadal ao longo das estações. Como resultado final foi possível, a descrição do ciclo reprodutivo anual para a espécie.

Para avaliação seminal quali-quantitativa analisaram-se peixes de novembro a março, período onde foi possível obter-se espermatozoides viáveis para a análise. Após a eutanásia dos animais, foram coletadas parte das gônadas e em seguida colocadas em microtubo de 1,5 ml. Em seguida foram cuidadosamente maceradas, com uma agulha histológica, extraindo 100 µL de sêmen, e em seguida adicionados a um microtubo com capacidade para 1,5 ml contendo 900 µL de Solução de Hank's (300 mOsm/kg, pH 7,6 a 28 °C) (YANG, 2006).

Para a análise da motilidade, 1 µL de sêmen diluído em câmara de Neubauer foi ativado com 5 µL de água destilada (28°C), sendo imediatamente coberto com

lamínula, para gravação dos vídeos de 20 segundos. A análise foi obtida em um microscópio de luz (Nikon Eclipse E200), conectado a uma câmera de alta velocidade (Basler AC640–120uc, 120 fps, Ahrensburg, Alemanha), na ocular de 100x. Ao todo foram gravados cinco vídeos de cada amostra de sêmen diluído, no software Pylon Viewer 4 (Versão 4.1.0.3660 64-Bit; Basler, Ahrensburg, Alemanha) com taxa de captura de 100 frames/segundo.

A análise foi realizada em um período de 1 segundo (100 frames), 10 segundos após a ativação. Os vídeos foram editados no software VirtualDub e analisados no software ImageJ, por meio do plugin CASA, sendo realizados diversos testes, até definir-se os parâmetros ideais para serem utilizados na análise CASA, obtendo-se as seguintes configurações: a=25; b=130; c=50; d=10; e=5; f=10; g=20; h=5; i=1; j=15; k=10; l=20; m=80; n=80; o=50; p=60; q=100; r=472.138; s=0; t=0 (adaptado de NEUMANN et al., 2019).

Previamente foram estipulados, os parâmetros de cinética espermática a serem avaliados pelo software CASA para a espécie: Motilidade - MOT; velocidade curvilínea - VCL; velocidade em linha reta - VSL; velocidade média de deslocamento - VAP e progressividade - PROG).

Após a eutanásia dos espécimes machos, foram coleadas parte das gônadas, inseridas em microtubo com capacidade para 1,5 ml, onde foram cuidadosamente maceradas, com auxílio de agulha histológica, possibilitando a extração de 100 µL de sêmen, os quais foram adicionados a um microtubo tipo eppendorf, com capacidade para 1,5 ml contendo 900 µL de formol-salino-tamponado (HANCOCK, 1957).

Em uma câmara de Neubauer, uma alíquota de 10 µL foi colocada em cada lado da câmara. Em seguida foi contabilizada a quantidade de espermatozoides em cinco campos, dos 25 existentes, em cada lado da câmara. Para conversão dos dados obtidos nas contagens para quantidade de espermatozoides por ml, utilizou-se a Equação 1.

$$CSPZ(SPZ.mL^{-1}) = \left(\frac{\sum SPZ}{10 q.c.} \right) \times \frac{25 q.t. \times diluição \times 1476}{profundidade da câmara(mm)}$$

Equação 1. Sendo SPZ = espermatozoides; ESPZ = número total de espermatozoides contados; q.c. = quadrículas contadas; q.t. = quadrículas totais; profundidade da câmara = 0,10 mm e diluição = fator de diluição do sêmen pelo fixador (adaptado de SANCHES, 2011).

Para a análise da morfologia espermática, as amostras fixadas foram coradas com Rosa de Bengala a 4% (STREIT JR., *et al*, 2004), na proporção de 10:100, utilizando 10 μ L de solução corante para 90 μ L de amostra de sêmen fixada. Para a confecção das lâminas utilizou-se o método de gota escorrida, adicionando duas gotas de 10 μ L com uma pipeta, em uma das extremidades da lâmina, para em seguida inclina-la até que as gotas escorrem até a extremidade oposta. Foram confeccionadas duas lâminas por tratamento, contabilizando-se uma lâmina a cada vez, sem que a contagem de uma interferisse na outra.

Para análise das lâminas, fotos foram obtidas com câmera de 12 megapixels. acoplado em um microscópio óptico (NIKON ECLIPSE, E-200) na objetiva de 40x. O software ImageJ, foi usado para auxiliar na visualização das fotos além de um contador de células sanguíneas para contabilizar cada espermatozoide visualizado. Ao todo foram contabilizados 200 espermatozoides em cada repetição das amostras. As análises das anormalidades foram adaptadas da contagem de células espermáticas descrita por Miliorini *et. al.* (2011).

5.3 Análise estatística

Para a análise estatística, os dados foram submetidos a teste de homogeneidade de Bartlett e de normalidade de Shapiro Wilk. Os dados que apresentaram distribuição normal foram submetidos a análise de variância de uma via (One-Way ANOVA). Já os dados que observou-se diferença, estes foram submetidos ao teste de Tukey. Dados não paramétricos foram analisados por meio de análise de Kruskal-Wallis, seguido de teste de Dunn quando observado diferença entre os grupos. Todas as análises foram realizadas considerando um nível de significância de 5%.

6 RESULTADOS

6.1 Análise morfofisiológica e histológica

Em média, os machos de *L. anus* possuíram um comprimento labial médio de $7,8 \pm 2,71$ mm, sendo superior ($P < 0,05$) ao das fêmeas de $5,3 \pm 0,70$ mm. Entretanto, os valores mensais se diferem, principalmente em machos, como observado na Figura 10. Os valores de coloração labial estão dispostos por contagem individual dos indivíduos que apresentam cada uma das três características, sendo possível observar que apenas de novembro à março os animais apresentaram coloração escurecida nos lábios, tanto nas bordas como no perímetro, sendo esta alteração de cor observada principalmente em machos (Tabela 3).

Tabela 3. Dados de coloração dos lábios de machos e fêmeas de *L. anus* ao longo de 12 meses.

Mês/Ano	Sexo	Quantidade coletada	Coloração dos lábios analisados		
			Normal	Borda escura	Perímetro escuro
Nov/21	F	8	7	1	0
	M	6	2	0	4
Dez/21	F	6	5	1	0
	M	5	1	0	4
Jan/22	F	7	5	2	0
	M	4	1	1	2
Fev/22	F	7	5	2	0
	M	5	0	1	4
Mar/22	F	6	5	1	0
	M	6	2	2	2
Abr/22	F	6	6	0	0
	M	6	4	2	0
Mai/22	F	6	6	0	0
	M	6	6	0	0
Jun/22	F	6	6	0	0
	M	6	6	0	0
Jul/22	F	6	6	0	0
	M	6	6	0	0
Ago/22	F	6	6	0	0
	M	6	6	0	0
Set/22	F	6	6	0	0
	M	6	6	0	0
Out/22	F	6	6	0	0
	M	6	5	1	0

No mês de outubro as médias de comprimento labial reduzidas dos machos se assemelham às das fêmeas, que por sua vez se mantiveram com médias constantes ao longo do ano, como pode ser observado na

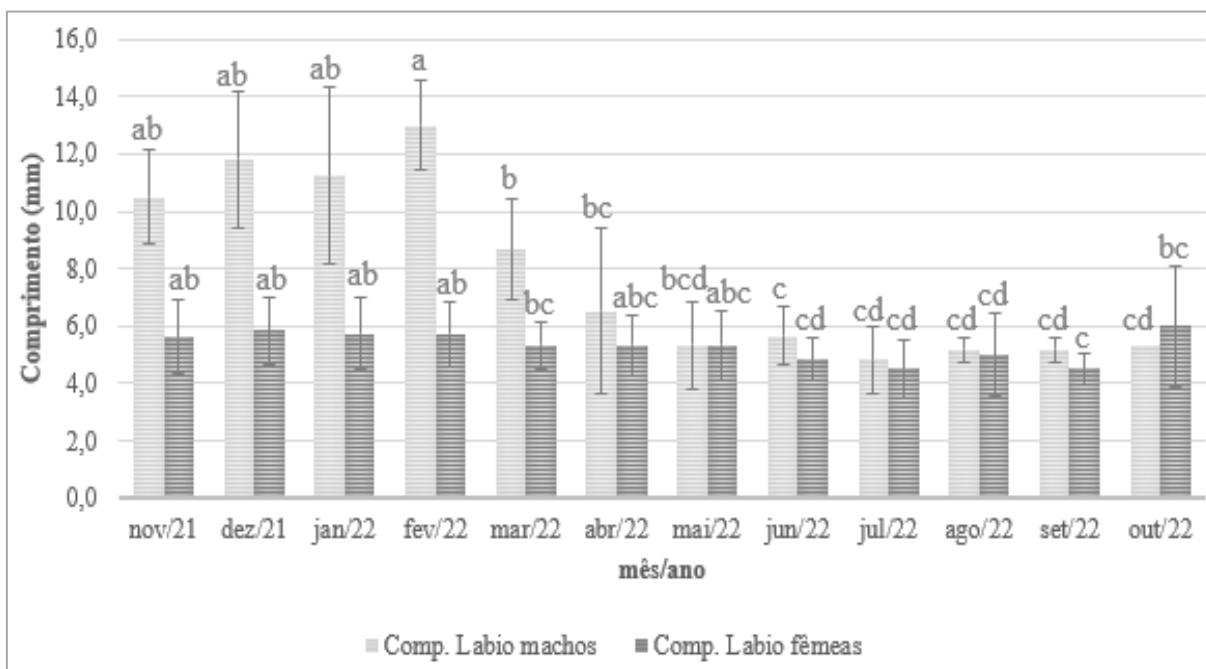


Figura 10.

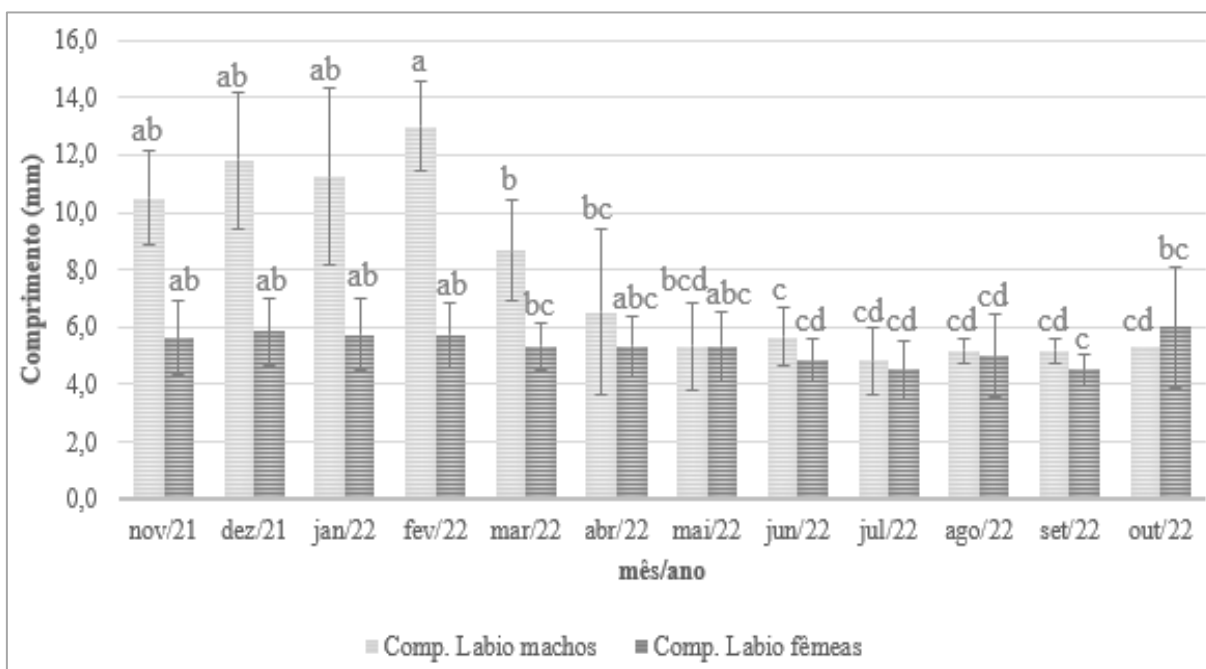


Figura 10. Variação mensal com desvio padrão do comprimento labial de machos e fêmeas de cascudo-viola *L. anus* capturados no rio Guaíba ao longo de 12 meses.

Foi observado um maior volume abdominal em fêmeas, por conta da maturação oocitária, aumentando este volume consideravelmente durante os meses de

novembro a fevereiro. Entretanto, muitas fêmeas não apresentaram modificação aparente em seu abdômen, além das medidas variarem sem um padrão, fazendo com que não se considerasse as medidas do volume abdominal para análise, apenas como informação.

Quanto ao índice gonadossomático (IGS), nos machos os valores médios mensais variaram entre 0,06 e 0,55%, sendo os maiores valores observados entre os meses de outubro a fevereiro, com pico em fevereiro (Figura 11). Para fêmeas os índices variaram entre 0,68 e 5,53%, sendo os maiores valores observados entre os meses de outubro e fevereiro, com pico em dezembro. Para ambos os sexos, foi observado um declínio nos índices a partir de março, estendendo-se até setembro, onde os valores voltaram a se elevar (Figura 12).

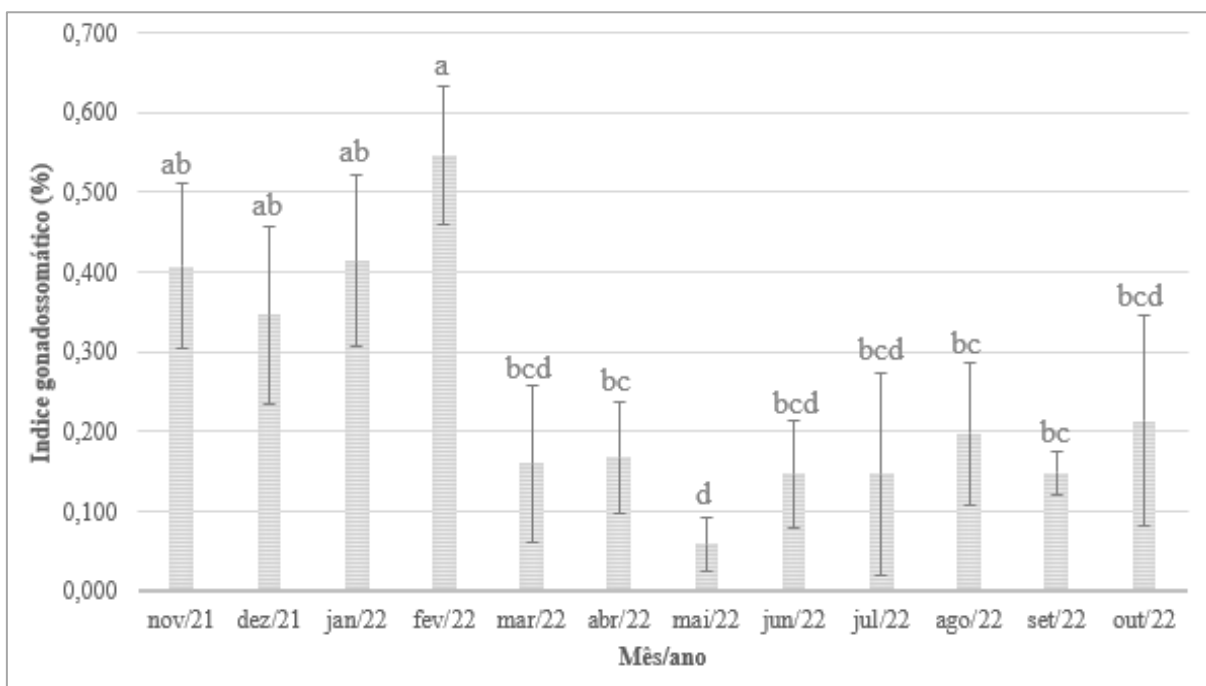


Figura 11. Índice gonadossomático (IGF) com desvio padrão de machos de *L. anus* capturadas no rio Guaíba ao longo de 12 meses.

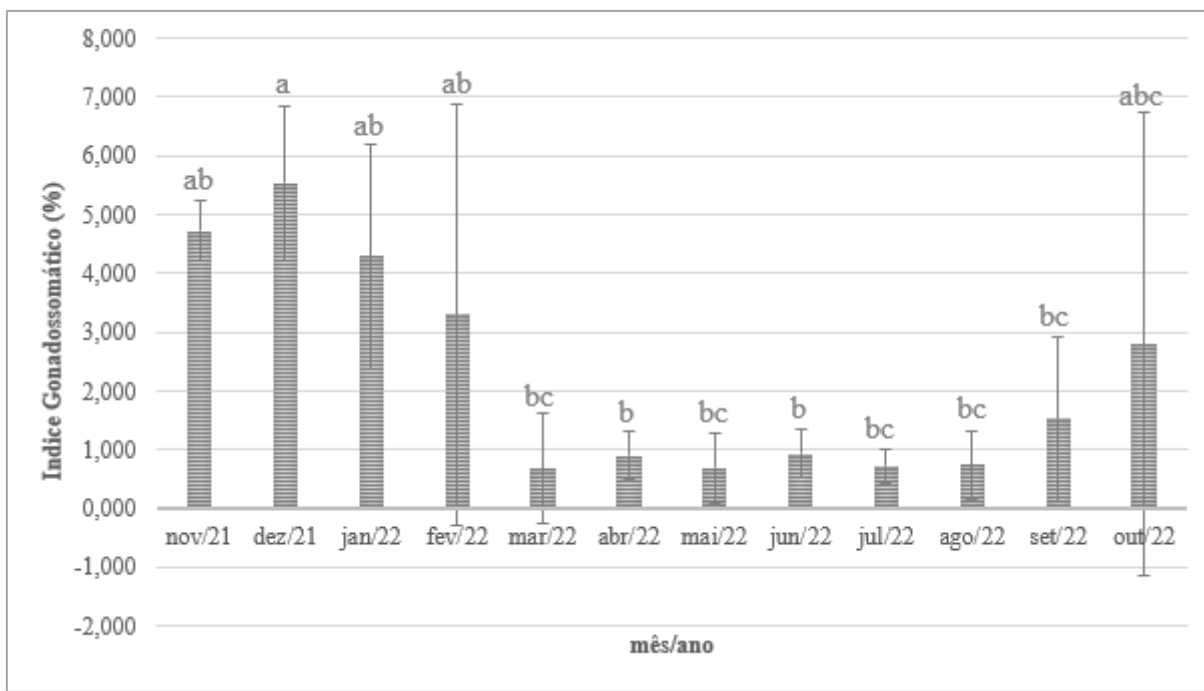


Figura 12. Índice gonadosomático (IGS) com desvio padrão de fêmeas de *L. anus* capturadas no rio Guaíba, relacionado com a pluviosidade ao longo de 12 meses.

Em *Loricariichthys anus* as gônadas são órgãos pareados e filiformes, suspensa por um mesovário e mesórquio, que se unem caudalmente em um oviduto e um ducto espermático, para as fêmeas e machos, respectivamente. Os testículos são do tipo tubular anastomosada (Figura 13) com espermatogônias distribuídas por todo o epitélio (Figura 14), e os ovários são do tipo cistovariano (Figura 15). Nenhum animal imaturo foi observado em ambos os sexos.

A estação do outono foi marcada pela regressão testicular seguida da maturação indicando o início de um próximo período reprodutivo (Figura 13. a). Em março, observou-se animais apresentando testículos com regiões de epitélio descontínuo, poucos cistos residuais, com ou sem espermatozoides residuais no lúmen amplo, e regiões com o epitélio totalmente contínuo com muitos cistos espermatogênicos, principalmente espermatócitos. Em abril, todos os machos apresentaram epitélio germinativo totalmente descontínuo, com cistos e espermatozoides espalhados por toda gônada, e o lúmen testicular menos pronunciado que no mês anterior (Figura 13. b). Em maio os animais apresentaram duas fases de maturação. Alguns testículos com epitélio totalmente descontínuo e grande volume de espermatozoides no lúmen testicular (Figura 13. c), enquanto outros apresentaram gônadas com epitélio totalmente contínuo, com grande volume de cistos espermatogênicos e raros espermatozoides no lúmen.

No inverno, os animais apresentaram epitélio totalmente descontínuo, com sêmen em pequeno volume por toda a gônada. Em contrapartida, em agosto, os animais apresentaram epitélio totalmente contínuo com muito cistos espermatogênicos e um amplo lúmen testicular, com espermatozoides em alguns pontos (Figura 13. b).

Na primavera, em setembro e outubro, a maioria dos animais apresentou epitélio descontínuo, com bastante cistos espermatogênicos, poucos espermatozoides em lúmen testiculares bastante amplos. Em novembro, a descontinuidade do epitélio aumentou, se estendendo por toda a gônada, e o volume de espermatozoides aumentou por toda a gônada (Figura 13. c-d).

No verão também se observam duas fases distintas, sendo que em dezembro, a maioria dos animais aparentemente já se reproduziu e começou um período de regressão/reorganização testicular (Figura 14), pois apresentam epitélio totalmente descontínuo, com poucos cistos espermatogênicos, com lúmen testicular bastante amplo sem espermatozoides ou com alguns residuais (Figura 14. b-c). Também é evidente um grande volume de espermatogônias (Figura 14. d) em outros espécimes, que também apresentaram as mesmas características dos animais de novembro, o que pode evidenciar que esses ainda não se reproduziram. Em janeiro e fevereiro, os testículos já apresentam mais cistos, mas com epitélio ainda descontínuo, raros espermatozoides e lúmen bastante amplo, caracterizando uma recuperação testicular.

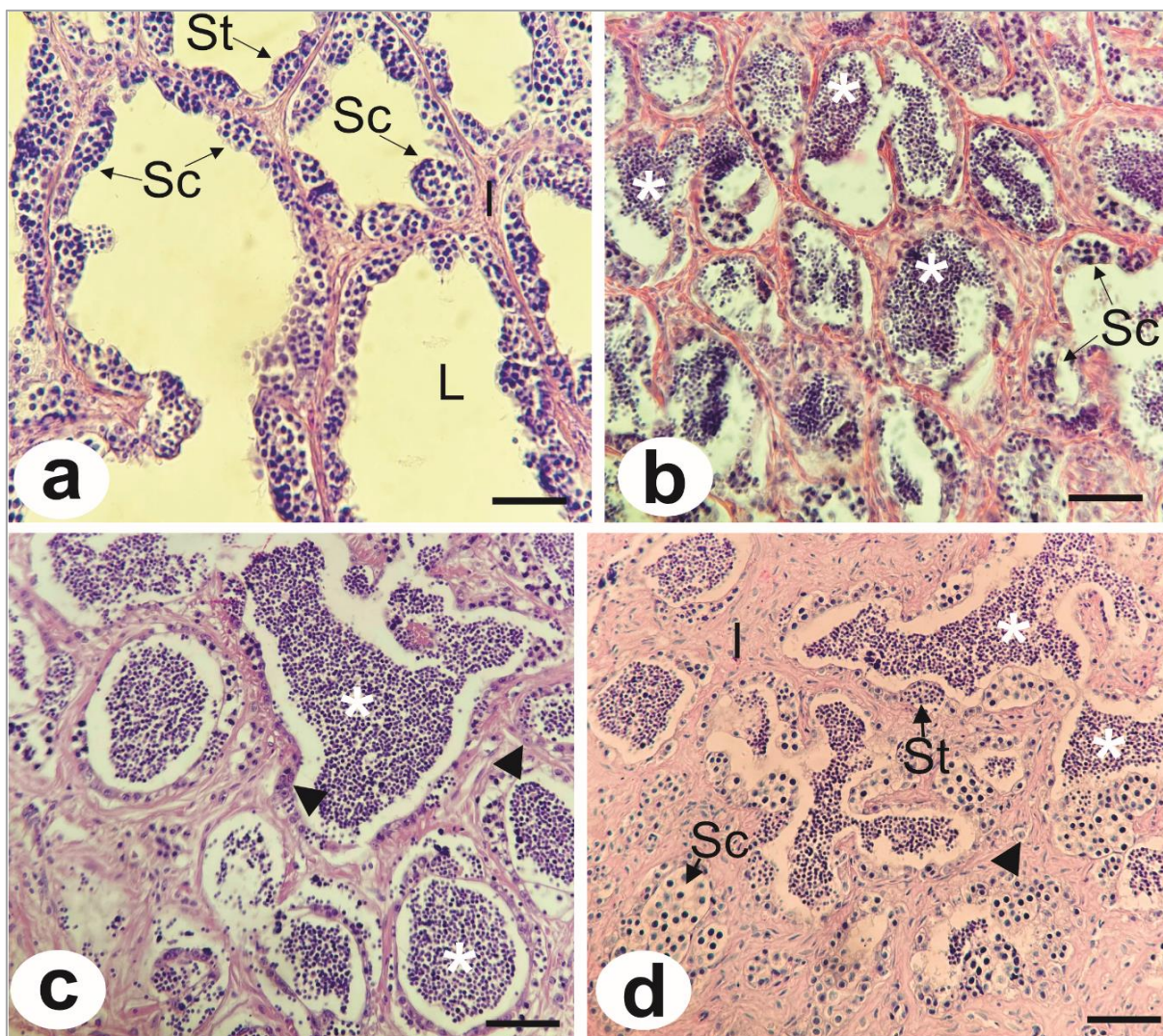


Figura 13. Representação histológica das fases de desenvolvimento testicular de cascudo-viola *Loricariichthys anus*. a) Testículo em Desenvolvimento, fase de Maturação Inicial, com lúmen amplo (L) e cistos de células germinativas, espermatócitos (Sc) e espermatídes (St); b) Testículo em Desenvolvimento, fase de Maturação Intermediária. Lúmen com espermatozoides (*), mas ainda são observados cistos de células germinativas (Sc); c-d) Animais Aptos à desova. Lúmen repleto de espermatozoides (*), porém apresentando espermatogônias (▴) e cistos de células germinativas (Sc e St) residuais. I = interstício. Barras de escala: 50 μ m.

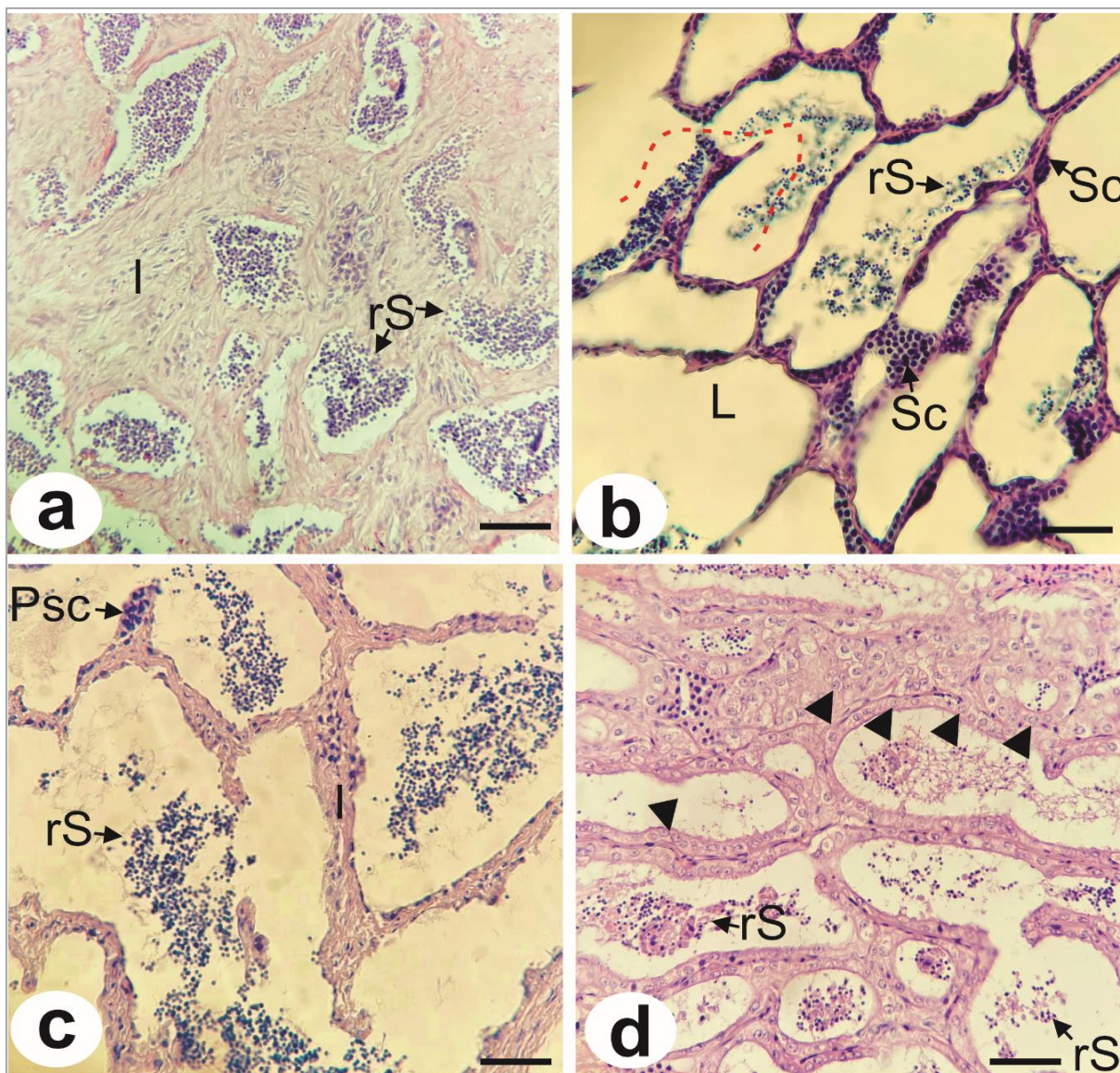


Figura 14. Representação histológica das fases de desenvolvimento testicular de cascudo-viola *Loricariichthys anus*. a) Animal em início de regressão, com aumento da região intersticial (l) e grande volume de espermatozoides residuais (rS); b-c) Animais em regressão com poucos espermatozoides residuais (rS) e células com núcleos picnóticos (Psc); d) Testículo em regeneração, com muitas espermatogônias (▶). Sc = cisto de espermatócitos; linha pontilhada representando a descontinuidade do epitélio. Barras de escala: 50 µm.

As fêmeas apresentam fases de desenvolvimento bem mais demarcadas entre as estações do ano. No outono, todos os animais estavam em desenvolvimento, com maturação inicial das gônadas, já em março os ovários estavam tomados por oócitos perinucleares, com apenas alguns poucos oócitos alvéoloaovéolo corticais (Figura 15. a-b). Tal tendência se repetiu para os meses de abril e maio. Entretanto, o volume de oócitos alvéolo corticais, embora ainda em menor volume, aumentou nitidamente, bem como se apresentaram mais desenvolvidos. As características ovarianas se mantêm bastante similares no inverno. Entretanto, os oócitos alvéolo corticais são um pouco mais desenvolvidos e mais presentes, e em alguns animais, visualmente já são

proporcionais aos oócitos perinucleolares. As gônadas ainda estão em desenvolvimento, porém a maturação é agora intermediária.

Na primavera, alguns animais começam a apresentar um pequeno volume de oócitos vitelogênicos nos meses iniciais dessa estação (setembro e outubro). Entretanto, os animais ainda estão em desenvolvimento, com características celulares bastante similares aos meses anteriores (Figura 15). Em contrapartida, em novembro todas as fêmeas estavam aptas à desova (Figura 15. d), mas ainda apresentando alguns oócitos alvéolo corticais e perinucleolares.

A estação do verão inicia com animais ainda aptos à desova em dezembro. Entretanto, em alguns casos, há grande volume de complexos foliculares pós ovulatórios (POC) (Figura 15. c, d-f). Em janeiro, segue com a maioria das fêmeas aptas à desova. Entretanto, um dos animais apresentou um predomínio de oócitos alvéolos corticais, embora oócitos vitelogênicos ainda estivessem presentes. Por fim, fevereiro marca o final do período reprodutivo, haja vista de animais aptos à desova, alguns deles apresentando POCs (Figura 15. c), e, em casos distintos, animais em desenvolvimento, com oócitos em crescimento primário (alvéolo corticais e perinucleolares) (Figura 15. a-b).

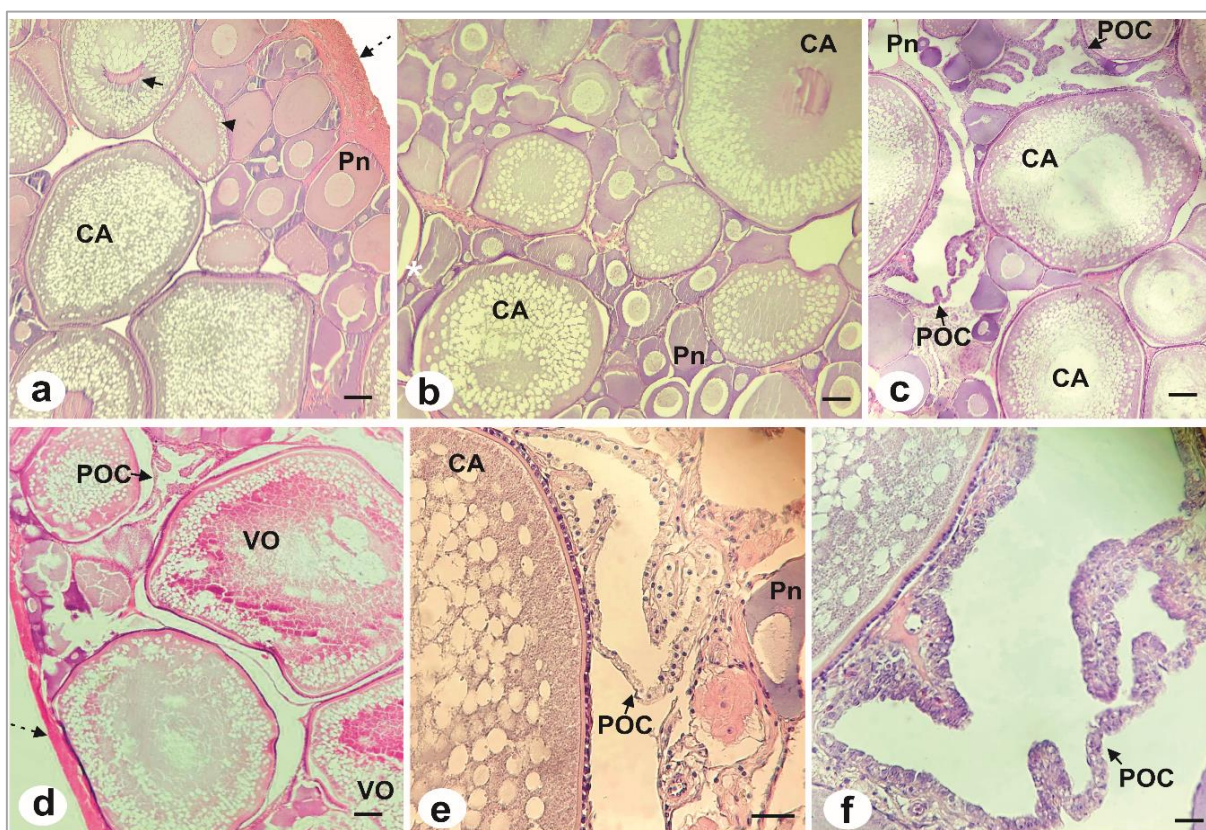


Figura 15. Representação histológica das fases de desenvolvimento ovariana de cascudo-viola *Loricariichthys anus*. a-b) Ovário Em Desenvolvimento, com predomínio de oócitos Perinucleares (Pn) e alvéolos corticais (CA); c) Ovário Em Desenvolvimento, evidenciando os complexos foliculares pós ovulatórios (POC), evidenciando o retorno reprodutivo; d) Ovário Apto à Desova, com oócitos vitelogênicos (VO); e-f) Destaque de complexos foliculares pós ovulatórios. Barras de escala: a-d: 50 μ m; e: 20 μ m; f: 10 μ m.

6.2 Análise quali-quantitativa seminal

Houve diferença ($p < 0,05$) para MOT (Figura 16) entre os períodos analisados em novembro, janeiro e março ($25,58 \pm 0,05$; $1,97 \pm 0,02$ e $2,11 \pm 0,005$), sendo o maior percentual de MOT foi observado no mês de novembro em relação aos outros meses. Para os demais parâmetros analisados, não foi verificada diferença estatística ($p < 0,05$). Sendo que, para VSL, VAP, VSL e PROG as médias encontradas não diferiam entre os meses analisados (Figura 17).

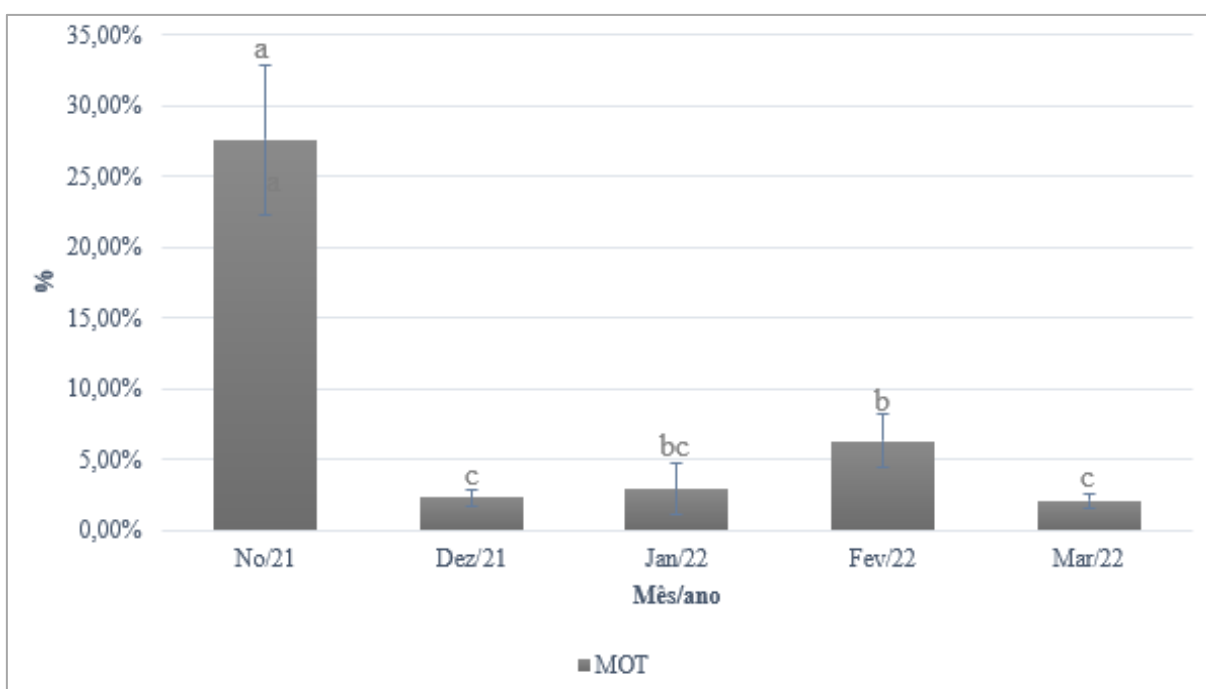


Figura 16. Variação mensal com desvio padrão dos valores de cinética espermática para MOT de *L. anus* capturados no rio Guaíba.

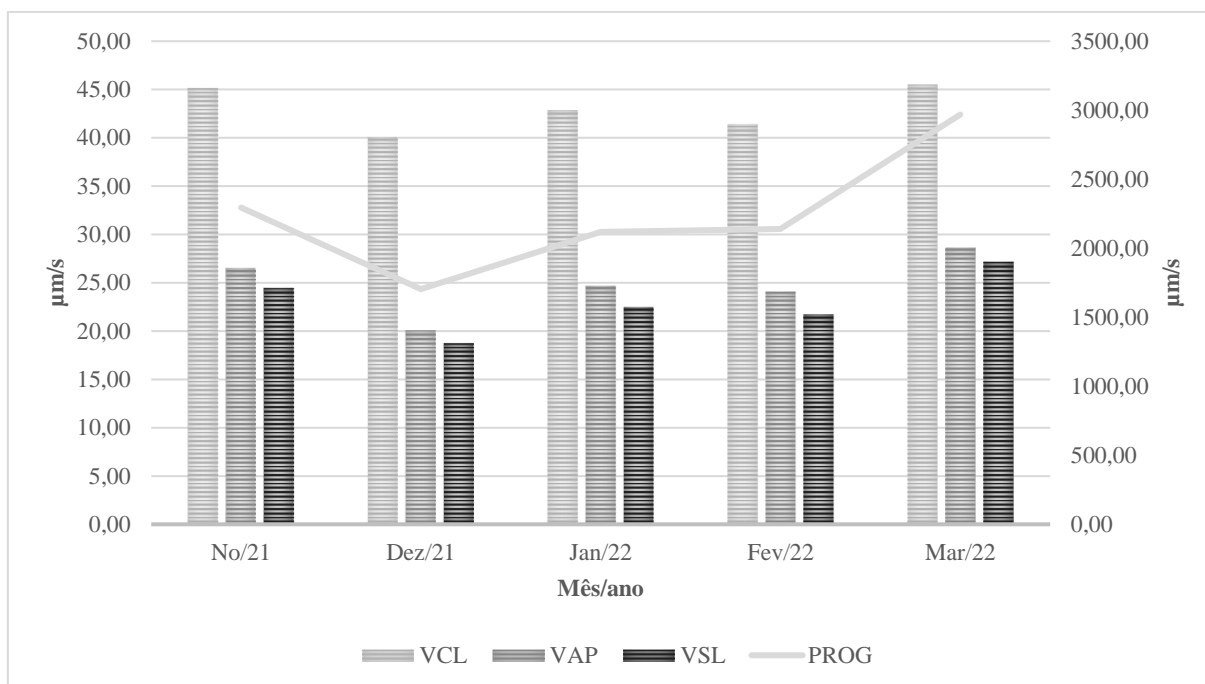


Figura 17. Variação mensal com desvio padrão dos valores de cinética espermática para VCL, VAP, VSL e PROG de *L. anus* capturados no rio Guaíba.

Os resultados encontrados para concentração espermática para *L. anus* capturadas no rio Guaíba entre os meses de novembro e março (Figura 18), não diferiram estatisticamente ($P > 0,05$), variando entre o 8.708.400 Espz/mL no mês março (menor média absoluta) e 11.586.600 Espz/mL no mês fevereiro (maior média absoluta).

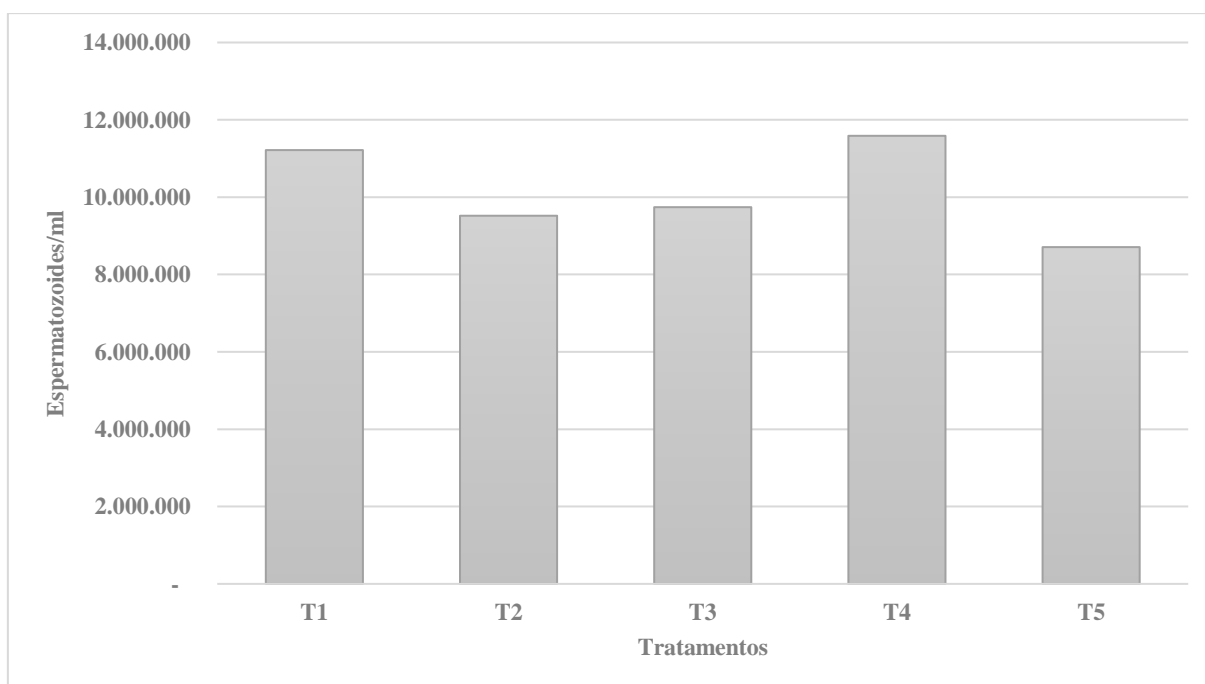


Figura 18. Variação da concentração espermática do *L. anus* capturados no rio Guaíba entre os meses de novembro e março.

A análise da morfologia espermática apresentou cinco principais anormalidades que diferiram estatisticamente entre os meses, além dos espermatozoides considerados morfologicamente normais (Tabela 4), a maior parte das anormalidades identificadas foram relacionadas a cabeça, não sendo encontradas, em grandes quantidades, anormalidades de cauda, apenas um pequeno percentual de cauda curta.

Tabela 4. Dados que obtiveram diferença estatística entre os parâmetros analisados para morfologia espermática de *L. anus*.

ID	Normal	Cabeça solta	Cauda curta	Cabeça degenerada	Macrocefalia	Microcefalia
M1	35,04%	15,59%	2,00%	1,29%	1,14%	0,72%
M2	41,18%	26,38%	0,95%	3,23%	2,66%	0,57%
M3	42,21%	23,37%	3,96%	0,19%	0,57%	1,88%
M4	37,33%	26,90%	1,28%	3,66%	2,38%	1,46%
M5	36,22%	28,03%	3,66%	0,35%	0,35%	0,35%
M6	24,54%	25,46%	2,21%	2,77%	1,85%	1,48%
Média	35,01%	22,80%	2,56%	1,36%	1,13%	1,03%

A principal anormalidade observada foi cabeça solta, que diferiu estatisticamente ($P > 0,05$) dos demais parâmetros (Figura 19), chegando até mesmo a ultrapassar o percentual de espermatozoides considerados normais.

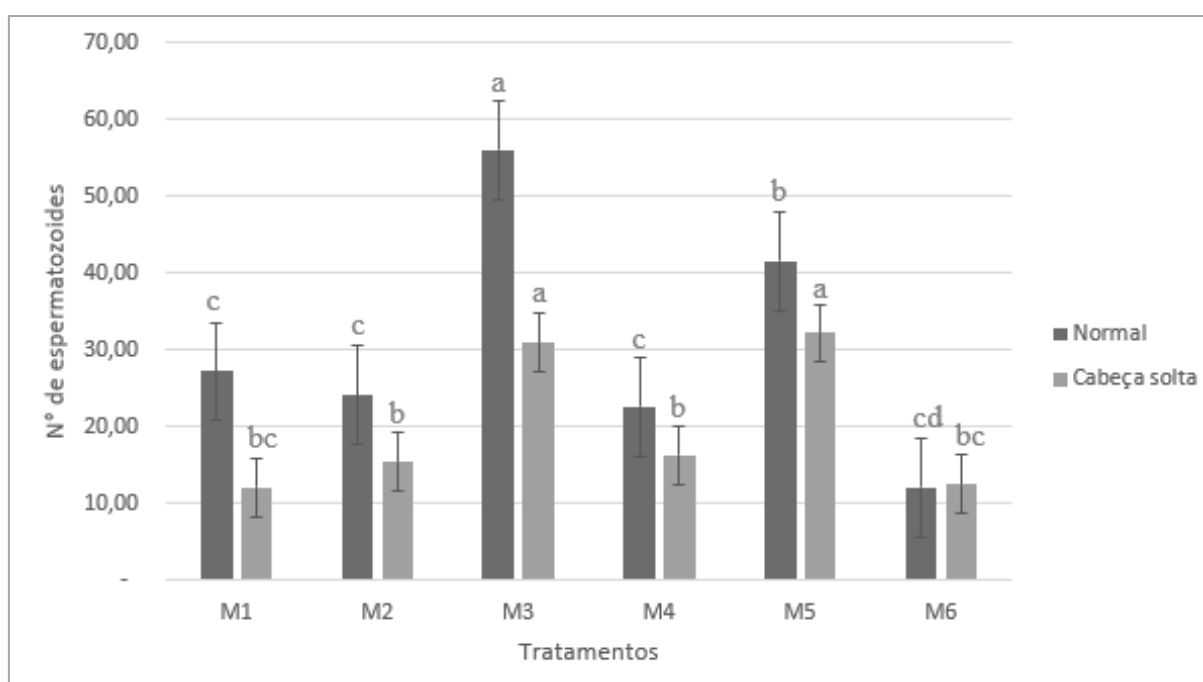


Figura 19. Variação de espermatozoides Normais e Cabeça solta, entre os tratamentos da análise de morfologia espermática para *L. anus*.

7 DISCUSSÃO

Durante o período reprodutivo, em machos da espécie o lábio inferior apresentou alongamento de 2 a 3 vezes o seu comprimento médio, quando comparado a machos fora do período reprodutivo, além de apresentar escurecimento nas laterais e porção final do lábio inferior durante os meses de novembro a março. Nas fêmeas, foi observado o abdômen abaulado durante os meses de novembro a fevereiro, supostamente o motivo foi a maturação das gônadas, coincidindo com as informações encontradas no IGS, enquanto os machos mantiveram a porção ventral do corpo plano. Logo, com as informações obtidas nesta análise, podemos caracterizar o período reprodutivo entre os entre novembro e março.

Durante os meses de outubro a fevereiro, quando as fêmeas e machos apresentaram os maiores valores de IGS, coincidiu com as estações primavera-verão no hemisfério sul, período no qual as temperaturas a se elevam e inicia-se o aumento do fotoperíodo. Considerando-se que este índice está diretamente relacionado com a maturação sexual, pode-se afirmar que o pico reprodutivo para machos ocorre no mês de fevereiro e para fêmeas ocorre no mês de dezembro, meses em que os exemplares apresentaram maiores percentuais de IGS.

Ambas as informações coincidem em épocas do ano (final da primavera, estendendo-se por todo o verão), com poucas características estendendo-se além desse período, tornando plausível afirmar que o período reprodutivo da espécie ocorre entre os meses de novembro a fevereiro no rio Guaíba. Características reprodutivas como as observadas em *L. anus*, são comuns em outras espécies de siluriformes como por exemplo nos gêneros *Ageneiosus*, *Trachelyopterus*, *Auchenipterus*, *Parauchenipterus*, *Epapterus* e *Tetranematichthys* (Britski, 1972; Walsh, 1990).

As análises morfológicas das gônadas de *L. anus* permitiram a confirmação de seu tipo testicular como tubular anastomosado, com distribuição irrestrita de espermatogônias, conformação descrita por Parenti & Grier (2004), Uribe et al. (2015) e Siqueira-Silva et al. (2019). Estas são características encontradas na maioria das espécies de ordens basais de Teleostei, caso dos Siluriformes, como no surubim *Pseudoplatystoma fasciatum* (Valentim et al., 2019). As fêmeas analisadas mostraram de forma evidente, oócitos em desenvolvimento sincrônico em mais de dois grupos, que são liberados à medida que maturam durante o longo período reprodutivo da

espécie, que tem duração de cerca de quatro meses. Assim, apesar da desova da espécie ser caracterizada como total, com pico reprodutivo entre o final da primavera e ao longo do verão, ficou claro que vários eventos reprodutivos ocorrem durante todo esse período. Isso pode ser confirmado pela presença constante de complexos foliculares pós ovulatórios, que evidenciam a liberação de oócitos maduros, em meio a oócitos aptos à desova, que ainda serão liberados. Segundo Vazzoler (1996), esse tipo de desova é raramente descrito na literatura por escassez de trabalhos que obedeçam a uma metodologia suficientemente rígida para detectá-los.

Apesar das fêmeas de *L. anus* apresentarem um claro e evidente pico reprodutivo, os machos da espécie não apresentam uma clara delimitação de fases de maturação em uma estação específica, com pouco volume espermático nos túbulos testiculares ao longo de todo o ano. Tal característica pode estar relacionada com a estratégia de cuidado parental apresentada pela espécie, em que os machos cuidam dos ovos fertilizados, carregando-os fixados no lábio inferior (da Rosa, 2015), como constatado em animais coletados em nosso estudo. Portanto, toda energia investida para o cuidado parental com prole pode ser uma estratégia reprodutiva da espécie para suprir a baixa fecundidade (STERBA, 1967). Esta característica ocorre em diversas espécies da família Cichlidae, as quais possuem baixa quantidade de oócitos, porém em grande volume e, em geral, possuem baixa fecundidade, apresentando desovas parceladas durante a estação reprodutiva (BALON, 1984).

No Rio Grande do Sul, o período de defeso está fixado entre 1 de outubro a 31 de janeiro, pela Instrução Normativa IBAMA nº 193/2008, não abrangendo, portanto, o período total de desova para a espécie *L. anus*. É fundamental que consideremos outro fato importante em não assegurar um período de defeso mais amplo para a espécie, neste caso a representatividade genética populacional. Logo, devem considerar que com o tempo irá levar um estreitamento da variabilidade genética da população, pois a subpopulação de *L. anus* que se reproduzem tardiamente (fevereiro e março), sofrerão uma intensa pressão de pesca. Esse fato, associado à baixa fecundidade e sobrepesca da espécie, seguramente comprometem a manutenção biológica de *L. anus* no rio Guaíba, evidenciando a importância de inclusão da espécie no planejamento e implementação de políticas públicas visando a conservação e manutenção do estoque pesqueiro.

Com relação ao estudo das características espermáticas do *L. anus*, consideramos neste estudo uma avaliação mensal comparada e não apenas o valor médio durante os meses que foram obtidas amostras seminais. Na análise de motilidade, apresentou um baixo percentual, sendo a média entre os meses avaliados de apenas 8,2%. Por outro lado, comparando as médias de motilidade mês a mês uma média expressiva foi observada em no mês de novembro, apresentando uma média de (27,6%). Quando comparado a outras espécies de Loricarídeos, como apontado por Bombardeli et al, (2013), observaram para o cascudo-preto (*Rhinelepis áspera*), de o qual apresentou 95,92% dos espermatozoides móveis.

O que sugere que a fecundação dos oócitos possam ser prejudicadas devido ao baixo volume de sêmen obtido, além da concentração que será confirmado no item Concentração e Morfologia Espermática, e sua baixa motilidade, tornando a espécie pouco eficiente e de difícil manejo para reprodução artificial.

Devido ao tamanho superior dos oócitos de algumas espécies da família Loricaridae, o baixo volume seminal pode ser justificado de acordo com a biologia reprodutiva da espécie (CALDAS, 2021). Durante as coletas de amostras das fêmeas de *L. anus*, foi possível observar que possuem gônadas com pouca quantidade de oócitos maduros e com tamanho bastante avantajado, o que sugere que esses parâmetros se equivalham.

Os demais parâmetros analisados se mantiveram com valores semelhantes entre si ao longo dos meses do estudo. Também se assemelham com informações obtidas para outras espécies, como para *Cyprinus carpio* (LINHART et al., 2000), sendo estes índices relacionados diretamente com a capacidade de fertilização *in vitro* da espécie (RURENGWA et al., 2004). Pode-se supor que é possível realizar a fertilização artificial, necessitando maiores informações relacionadas ao tempo de contato entre os gametas, além da dose inseminante em relação a quantidade de oócitos.

Quanto ao número de espermatozoides de *L. anus* disponíveis para fertilizar os oócitos, a concentração espermática foi em média de $1,0 \times 10^7$ Espz/mL, sendo inferior por exemplo a outra espécie da Família Loricaridae, (*Rhinelepis áspera*) que possui uma concentração de $2,1 \times 10^{10}$ Espz/mL (SANCHES, 2011). Seguramente a baixa concentração espermática da espécie comparada com outras espécies sul-americanas, está relacionada com a sua estratégia reprodutiva, e que possivelmente

não demanda um grande número de espermatozoides em função, possivelmente baixo número de oócitos que são produzidos pelas fêmeas.

Novamente é preciso ressaltar que a estratégia reprodutiva desta espécie, que tem um período reprodutivo marcado (novembro-março), mas que possui características clássicas de peixes de desova parcelada (cuidado parental, baixo número de ovos incubados e de grande tamanho. Sem fazer uma análise quantitativa de oócitos produzidos pelas fêmeas, não é possível afirmar que a concentração observada para *L. anus*, pode ser considerada comprometedora. De todo modo, a concentração *L. anus* é baixa se comparada com outras espécies de período reprodutivo definido, como por exemplo: (*Salminus brasiliensis*) $1,29 \times 10^{10}$ Espz/mL e curimba (*Prochilodus lineatus*) $2,27 \times 10^{10}$ Espz/mL (SANCHES, 2011). Billard & Cosson (1992) citaram em seu artigo clássico que a concentração espermática é um parâmetro qualitativo importante seminal. E associado com a cinética espermática passa a ser fundamental para por exemplo o desenvolvimento de um protocolo reprodutivo em laboratório para a espécie em um futuro próximo.

A avaliação da morfologia espermática de peixes é um parâmetro fundamental para caracterização reprodutiva de uma espécie, principalmente relacionada a tomada de decisões quanto ao manejo reprodutivo (COSTA et al, 2022). Os parâmetros de concentração, volume e motilidade, permitem constatar qualitativamente o sêmen de um peixe (BORYSHPOLETS, 2018) e se somarmos a morfologia espermática, a predição passa a ser mais precisa. Em *L. anus*, o elevado percentual de espermatozoides com a anormalidade de cabeça solta, possivelmente esteja relacionado com o método de extração do sêmen (macerando das gônadas), o que provocou um choque mecânico demasiado nos espermatozoides, porém, a maceração gônadas, até o momento, foi o único método eficiente para se obter as amostras para análise. É possível que a utilização de outros métodos de extração de sêmen, possam proporcionar resultados distintos dos apresentados no presente estudo.

Por não haver estudos prévios de morfologia e a morfometria que indiquem os parâmetros normais dos espermatozoides da espécie, os índices encontrados são o único parâmetro conhecido, até o momento, não sendo possível realizar uma comparação (MARIA, 2010). Por não haver um parâmetro que indique o percentual de anormalidade que interfiram no sucesso reprodutivo, além de considerar as baixas

ocorrências das anormalidades, com exceção da Cabeça solta, pode-se afirmar que a morfologia não afetará a capacidade de fertilização da espécie, de acordo com esse estudo.

Invariavelmente estudos que abordem desde a morfologia do animal, proporção sexual, IGS, período reprodutivos devem ser considerados fortemente para a formulação das pretensas leis de proteção ambiental de acordo com inúmeros estudos. Mesmo as leis já existentes devem se ajustar à medida que novas informações são adicionadas.

8 CONCLUSÃO

O dimorfismo sexual da espécie ocorre apenas durante o período reprodutivo, de novembro a fevereiro, podendo estender-se até março em alguns casos. Machos de *L. anus* apresentam um prolongamento labial de até 3 vezes seu tamanho normal, além do escurecimento de todo o perímetro labial. Através da análise histológica obteve-se a informação de que a espécie apresenta seu período reprodutivo entre os meses de novembro e fevereiro, no Rio Guaíba, realizando desovas totais, com mais de um evento reprodutivo, durante o período.

A análise cinética demonstrou que a espécie apresenta baixa motilidade espermática, além de baixa concentração e baixo volume de sêmen. Através da análise morfológica a principal anormalidade encontrada foi cabeça solta, entretanto os resultados podem ter sido alterados pela forma de extração do sêmen, por meio de maceração, necessitando testar outras formas de coleta dos espermatozoides.

Após caracterizar o período reprodutivo do *L. anus*, entendemos ser necessário o poder público revisar o período de defeso para a espécie, sendo necessário ampliar em dois meses, sob pena da população da espécie no Rio Guaíba entrar em colapso.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie apresenta dimorfismo sexual apenas durante o período reprodutivo, neste caso o comprimento e coloração do lábio inferior dos machos, não sendo possível distinguir os sexos entre os meses de abril a setembro, morfológicamente e nem macroscopicamente.

De acordo com o IGS e histologia gonadal, o período reprodutivo da espécie ocorre entre os meses de outubro a fevereiro, no rio Guaíba. Os machos de *L. anus*, não apresentam uma clara delimitação de fases de maturação em uma estação específica. Com pouco volume de espermatozoides produzido ao longo de todo o ciclo. As fêmeas apresentam uma demarcação clara de pico reprodutivo, iniciando ao final da primavera (novembro) e continuando em todos os meses do verão, com mais de um evento reprodutivo dentro desse período.

A espécie apresenta baixa motilidade espermática, baixa concentração espermática e baixo volume de sêmen, quando comparada entre espécies da mesma família podendo este, ser um gargalo para elaboração de protocolos de reprodução em cativeiro. Entretanto, apresenta espermatozoides com capacidade de realizar fertilização artificial.

Foi constatado pela análise da morfologia espermática, que as anormalidades de espermatozoide para a espécie, não interferem na capacidade de fertilização. Sendo necessário a comprovação do estudo com outras formas de extração de sêmen.

De acordo com os dados obtidos, o período de desova para *L. anus* no rio Guaíba foi estabelecido entre os meses de outubro e fevereiro, tanto pela análise do IGS, como na histologia gonadal, além da clara evidencia de dimorfismo sexual durante o período reprodutivo. Dessa forma, ao comparar-se com o período de defeso estabelecido pela Instrução Normativa IBAMA nº 197/2008, iniciando em 01 de novembro estendendo-se até 31 de janeiro, não abrangendo totalmente o ciclo reprodutivo da espécie, podendo-se constatar que os meses de novembro e fevereiro não estão contemplados, tornando a espécie vulnerável a pesca predatória e colocando em risco a conservação da espécie e manutenção dos estoques pesqueiros

REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, A. A. *et al.* Flood regime, dam regulation and fish in the Upper Paraná River: Effects on assemblage attributes, reproduction and recruitment. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, London, v. 14, p. 11-19, 2004.
- AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; PELICICE, F. M. **Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil**. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, 2007. 501 p.
- ALBRECHT, M. P.; SILVEIRA, C. M. Alimentação de *Loricariichthys anus* (teleostei; Loricariidae) nas lagoas Marcelino e Peixoto, Planície costeira do Rio Grande do Sul. **Acta Limnologica Brasileira**, Rio Claro, v. 13, n. 2, p. 79-85. 2001.
- ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na reprodução de peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 27, n. 2, p. 166-172, 2003.
- ANDRADE, D. R. **Variação cíclica anual da espermatogênese em *Leporinus silvestrii* (Boulenger, 1902) peixe teleósteo**. 1980. 87 f. Dissertação (Mestrado em morfologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1980.
- ARIKI, D. G. F. **Remoção da adesividade em ovos de *Pseudoplatystoma fasciatum***. 2014. 44 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, Jaboticabal, 2014.
- BALON, E. K. Patterns in the evolution of reproductive styles in fishes. *In*: POTTS, G. W.; WOOTTON, R. J. (ed.). **Fish reproductions: strategies and tactics**. London: Academic Press, 1984. p. 35-54.
- BAZZOLI, N. **Parâmetros reprodutivos de peixes de interesse comercial na região de Pirapora: águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Belo Horizonte: PUC Minas/CNPq-PADCT, 2003. v. 1, p. 291-306.
- BEHR, E. R.; BALDISSEROTTO, B. Comparação da Ictiofalna de três locais do Rio Vacacaí-Mirim, Rio Grande do Sul. **Comunicações do Museu de Ciências as PUCRS**, Porto Alegre, v. 7, p. 167-178, 1994.
- BILLARD, R.; COSSON, M. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. **Journal of Experimental Zoology**, Hoboken, v. 261, n. 2, p. 122-131, 1992.
- BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nordisk Veterinaermedicin**, Copenhagen, v. 25, p. 383-391, 1973.
- BOYER M.; ROUSTAN C.; BENYAMIN Y. DNase I - actin complex: an immunological study. **Bioscience Reports**, London, v. 5, p. 39-46, 1989.

BOMBARDELLI, R. A. *et al.* Effects of the spermatozoa: oocyte ratio, water volume and water temperature on artificial fertilization and sperm activation of cascudo-preto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 42, n. 1, p. 1-3, 2013.

BORYSHPOLETS, S. *et al.* Fish sperm motility analysis: the central role of the flagellum. **Reproduction, Fertility and Development**, East Melbourne, v. 30, n. 6, p. 833-841, 2018.

BRITSKI, H. **Sistemática e evolução dos Auchenipteridae e Ageneiosidae (Teleostei, Siluriformes)**. 1972. 142 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1972.

BRASIL. Superintendência do Desenvolvimento da Pesca – Portaria SUDEPE nº 466, 8 de novembro de 1972. Dispõe sobre materiais e equipamentos proibidos para pesca em águas interiores. **Diário Oficial da União: Seção 1**, Brasília, DF, 20 dez. 1972. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/1972/p_sudepe_466_1972_revvd_piracema_alterada_p_18_1981_revvd_in_ibama_43_2004.pdf. Acesso em: 7 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de processamentos para implantação de estabelecimento industrial de pescado: produto fresco e congelado**. Brasília, DF: Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. MAPA, 2007. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/empresario/arquivos/copy_of_Manualdeprocedimentoparaimplantacaodeestabelecimentodepescadocompleto.pdf. Acesso em: 10 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Sanidade dos animais aquáticos**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 16 fev. 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/sanidade-dos-animais-aquaticos>. Acesso em: 6 maio 2021.

BRUSCHI JUNIOR, W. *et al.* Reprodução de *Loricariichthys anus* (VALENCIENNES, 1840) da lagoa Emboaba, Osório, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 57, n. 4, p. 677-685, 1997.

BUENO, R. M. X.; OLIVEIRA, M. R.; CHELLAPPA, S. Desenvolvimento gonadal, fecundidade e tipo de desova do cascudo, *Hypostomus puzarum* (Starks, 1913) (Actinopterygii: Loricariidae) do açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 7, n 4 p. 30-33, 2017.

BURGESS, W. E. **An atlas of freshwater and marine catfishes: a preliminary survey of the siluriformes**. Neptune City: T. F. H. Publications, 1989. 784 p.

CALDAS, J. S. *et al.* Effects of hormonal treatment on induced spermiation and semen quality in the endangered Amazonian fish *Hypancistrus zebra* (Siluriformes, Loricariidae). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 533, [art.] 736140, 2021.

CALDAS, J. S.; GODOY, L. Sperm characterization of the endangered Amazonian fish *Hypancistrus zebra*: basic knowledge for reproduction and conservation strategies. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 204, p. 117-124, 2019.

CAMERON, D. W. A morphometric analysis of extant and early Miocene fossil Hominoid maxillo-dental specimens. **Primates**, Tokyo, v. 33, n. 3, p. 377-390, 1992.

CARDOSO, A. R. **Biologia reprodutiva da viola *Loricariichthis anus* no reservatório do Casqueiro – Arroio Grande, RS**. 2013. 45 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, na área de concentração: Melhoramento Animal) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

CARNEIRO, P. C. F.; MIKOS, J. D. Gonadotrofina coriônica humana e hormônios liberadores de gonadotrofina como indutores da reprodução do jundiá. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 345-350, 2008.

CEEE - CEEE GRUPO EQUATORIAL ENERGIA. **CEEE realiza soltura de peixes no rio Jacuí**. [Porto Alegre]: CEEE, 18 out. 2019. Disponível em: <https://ceee.equatorialenergia.com.br/noticias/ceee-realiza-soltura-de-peixes-no-rio-jacua>. Acesso em: 10 set. 2021.

CONCEA - CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. Resolução Normativa CONCEA nº 37, de 15.02.2018. Baixa a Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – Concea. **Diário Oficial da União: Seção 1**, Brasília, DF, [p. 1-49], 22 fev. 2018.

COSSON, J. Fish sperm physiology: structure, factors regulating motility, and motility evaluation. *In*: BOZKURT, Y. (ed.). **Biological research in aquatic science**. London: Intechopen, 2019. v. 1, p. 1-26.

COSSON, M-P. *et al.* Rapid and quantitative assessment of trout spermatozoa motility using stroboscopy. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 46, n. 1, p. 71-75, 1985.

COSSON, J. *et al.* factors regulating the motility of fish sperm. *In*: GAGNON, C. (ed.). **The male gamete: from basic science to clinical applications**. Vienna: Cache River Press, 1999. Cap.16, p.162-186.

COSTA, B. B. **A relação da morfologia espermática com a cinética dos espermatozoides de *Danio rerio* e *Brycon hilarii***. 2022. 176 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2022.

DARWIN, C. R. **The descent of man, and selection in relation to sex**. (Ed. J. Murray, London, reprinted 1981). Princeton University Press, New Jersey. 475pp. 1871.

DIEN, D. T. *et al.* Gonad state and sex steroid hormones concentrations in invasive Catfish (*Loricariidae*) from Vietnam. **Journal of Ichthyology**, Moscow, v. 62, n. 1, p. 145-152. 2022

DUFECH, A. P. S.; FIALHO, C. B. Estudo comparado da taxocenose de peixes em dois ambientes aquáticos do Parque Estadual de Itapuã, sul do Brasil. **Iheringia. Série Zoológica**, Porto Alegre, v. 99, n. 1988, p. 177–188, 2009.

FAUVEL, C.; SUQUET, M.; COSSON, J. Evaluation of fish sperm quality. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 26, n. 5, p. 636-643, 2010.

FERRARIS, C. J. Jr. Loricariidae - Loricariinae (Armored catfishes). *In*: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, C. J. Jr. (ed.). **Check list of the freshwater fishes of south and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. p. 330-350.

FERRAZ, M. A. M. M. *et al.* Evaluation of sperm subpopulation structure in relation to in vitro sperm–oocyte interaction of frozen- thawed semen from Holstein bulls. **Theriogenology**, New York, v. 81, n. 8, p. 1067-1072, 2014.

FISH BASE. **A global information of system on fishes**. [S. l.]: Fish Base, 2003. Disponível em: <http://www.fishbase.org/summary/Loricariichthys-anus.html>. Acesso em: 12 set. 2021.

GODINHO, H. P. *et al.* e tipo de desova do mandi *Pimelodus maculatus* Lacepede 1803 (Pisces, Siluroidei). **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 37, n. 4, p. 737-744, 1977.

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

GONÇALVES, L.; OLIVEIRA, S. A.; LIMA-JUNIOR, S. E. Hábitos alimentares da ictiofauna do córrego Franco, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Biota Neotropica**, Dourados, MS, v. 10, n. 2, p.10-21, 2010.

HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. Introduction: fishes of the floods. *In*: CAROLSFELD, J. *et al.* (ed.). **Migratory fishes of South America: biology fisheries and conservation status**. Washington, DC: World Fisheries Trust, World Bank, IDRC, 2019. p. 1-19.

HASTINGS, P. A. Ontogeny of sexual dimorphism in the angel blenny, *Coralliozetus angelica* (Blennioidei: Chaenopsidae). **Copeia**, New York, v. 1991, n. 4, p. 969-978, 1991.

HONJI, R. M.; CANEPPELE, D.; GUIMARÃES, R. Caracterização macroscópica das gônadas durante a reprodução induzida em cativeiro do surubim-do-paraíba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 48, n. 8, p. 1110-1114, 2013.

HUET, M. **Tratado de piscicultura**. Madrid: Mundi-Prensa, 1978.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa IBAMA Nº 43, 26 de julho de 2004. Dispõe sobre Proibir, no exercício da pesca em águas continentais, o uso de aparelhos e métodos. **Diário Oficial da União: Seção 1**, Brasília, DF, 26 jul 2004. Disponível em: <http://bioteia.com.br/apadelta/wp->

content/uploads/DocumentosAPA/Legislacao/11%20-%20in_ibama_43_2004_regulamenta-pesca-em-aguas-continentais.pdf. Acesso em: 7 mar. 2021.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Instrução Normativa IBAMA N° 197 de 2 de outubro de 2008. Dispõe sobre a proibição da pesca de espécies em período de reprodução e dá outras providências. **Diário Oficial da União: Seção 1**, Brasília, DF, 3 out. 2008. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Instrucao_normativa/2008/in_ibama_197_2008_normasparapescadefesopiracema_rs_sc.pdf. Acesso em: 15 jan. 2023.

ICMBio - INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Portaria MMA n° 445 de 17 de novembro de 2014. Reconhece como espécies de peixes e invertebrados aquáticos da fauna brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes da "Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção - Peixes e Invertebrados Aquáticos. **Diário Oficial da União: Seção 1**, Brasília, DF, 18 dez. 2014. Disponível em: www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria%2014%20Pp_mma_445_2014_lista_peixes_amea%25C3%25A7ados_extin%25C3%25A7%25C3%25A3o.pdf. Acesso em: 15 set. 2021.

ICMBio - INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. **livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Volume VI – Peixes. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2018. 1232 p.

IKEJIMA, K.; SHIMIZU, M. Annual reproductive cycle and sexual dimorphism in the dragonet, *Repomucenus valenciennei*, in Tokyo Bay, Japan. **Ichthyological Research**, Tokyo, v. 45, n. 2, p. 157-164, 1998.

KOSSOWSKI, C. *et al.* Reporte sobre reproducciones espontáneas en cautiverio de cachama, *Colossoma macropomum* en la estación de piscicultura de la UCLA. *In: MEMORIAS de la Convención Venezolana para el avance de la ciencia*. Valencia, Venezuela: [s.n.], 1986. p. 36.

KOWALSKI, R. K.; CEJKO, B. I. Sperm quality in fish: determinants and affecting factors. **Theriogenology**, New York, v. 135, p. 94-108, 2019.

LACERDA, S. M. S. N. **Transplante de espermatogônias**: a tilápia-nilótica (*oreochromis niloticus*) como modelo experimental. 2006. 61 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

LAHNSTEINER, F. Introduction to the special issue on 'Cryopreservation of gametes in aquatic species'. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 31, n. 3, p. 229-229, 2000.

LINHART, O.; RODINA, M.; COSSON, J. Cryopreservation of sperm in common carp *Cyprinus carpio*: sperm motility and hatching success of embryos. **Cryobiology**, San Diego, v. 41, n. 3, p. 241-250, 2000.

LÓPEZ C. M. **Crescimento de larvas de cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*) Spix & Agassiz, 1829 (Osteichthyies: Siluriformes, Loricariidae), submetidos a diferentes dietas alimentares**. 2005. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2005.

MARIA, A. N. *et al.* Semen characterization and sperm structure of the Amazon tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 26, n. 5, p. 779-783, 2010.

MARTINS, M. I. E. G.; BORBA, M. M. Z. **Custo de produção**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2004. 23 p.

MARENGONI, N. G.; WILD, M. B. Sistema de produção de pós-larvas de Tilápia do Nilo. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 13, n. 4, p. 265-276, 2014.

MEGA, D. F.; BEMVENUTTI, M. A. Guia didático sobre alguns peixes da Lagoa Mangueira, RS. **Caderno de Ecologia Aquática**, Rio Grande, v. 1, n. 2, p. 1-15, 2006.

MENEZES, R. S. Incubação labial de ovos pelo macho de *Loricaria typus* Bleeker, da Lagoa do Peixe, Piauí, Brasil (Actinopterygii, Loricariidae, Loricariinae). **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 9, n. 3, p. 381-387, 1949.

MOLINAR, E. R. *et al.* A mechanism for anterior transposition of the anal fin and its appendicular support in the western mosquitofish, *Gambusia affinis* (Baird and Girard, 1854). **Acta Anatomica**, Basel, v. 163, n. 2, p. 75-91, 1998.

MORTIMER, S. T. A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. **Human Reproduction Update**, Oxford, v. 3, n. 5, p. 403-439, 1997.

MYLONAS, C. C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and Comparative Endocrinology**, New York, v. 165, p. 516-534, 2010.

NAGAHAMA, Y.; YAMASHITA, M. Regulation of oocyte maturation in fish. **Development, Growth & Differentiation**, Tokyo, v. 50, p. 195-219, 2008.

NWADUKWE, F. O. Inducing oocyte maturation, ovulation and spawning in the African catfish, *Hetrobranchus longifilis* Valenciennes (Pisces: Claridae), using frog pituitary extract. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 625-630, 1993.

OSTRENSKY, A. *et al.* Situação atual da aquicultura brasileira e mundial. *In*: VALENTI, C. V. *et al.* (ed.). **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília, DF: CNPq, 2000. p. 354-381.

PARENTI L, R.; GRIER, H. J. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. **Integrative and Comparative Biology**, McLean, VA, v. 44, n. 5, p. 333-348, 2004.

PAIXÃO, A. C. **Revisão taxonômica e filogenia de *Loricariithys Bleeker, 1862* (Ostariophysi: Siluriformes: Loricariidae)**. 2014. 289 f. Tese (Doutorado em Ciências, na Área de Zoologia) – Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

PEREIRA, *et al.* Índice gonadossomático como indicador do período reprodutivo de *Prochilodus lineatus* (pisces, characidae) nos rios Aquidauana e Miranda, MS. *In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SOCIOECONÔMICOS DO PANTANAL*, 4., 2004, Corumbá. **Anais** [...]. Corumbá: SIMPAN, 2004. Resumo.

PEZZANITE, B.; MOLLER, P. A sexually dimorphic basal anal-fin ray expansion in the weakly discharging electric fish *Gnathonemus petersii*. **Journal of Fish Biology**, London, v. 53, n. 3, p. 638-644, 1998.

PRESTES, João. **Pesquisadores do Imasul reproduzem em cativeiro espécie de cascudo ameaçada de extinção**. Campo Grande: IMASUL, 26 nov. 2019. Disponível em: <https://www.imasul.ms.gov.br/pesquisadores-do-imasul-conseguem-reproduzir-em-cativeiro-especie-de-cascudo-ameacada-de-extincao/>. Acesso em: 15 set. 2021.

RAPP PY-DANIEL, L. H.; COX FERNANDES, C. Dimorfismo sexual em Siluriformes e Gymnotiformes (Ostariophysi) da Amazônia. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 35, n. 1, p. 97-110, 2005.

RODRIGUES, L. P.; QUEROL, E.; BRACCINI, M. D. C. Descrição morfo-histológica do ovário de *Acestorhynchus pantaneiro* (Meneses, 1992) (Teleostei, Characidae), em seus diferentes estádios de desenvolvimento, na bacia do rio Uruguai médio, Uruguaiana, RS. **Biodiversidade Pampeana**, Uruguaiana, v. 3, n. 1, p. 11-18, dez. 2005.

ROMAN, A. P. O. **Biologia reprodutiva e dinâmica populacional de *Hypancistrus zebra* Isbrücker & Nijssen, 1991 (Siluriformes, Loricariidae), no rio Xingu, Amazônia Brasileira**. 2011. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2011.

ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, 2008.

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

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

SALLUM, W. B. **Reprodução artificial das principais espécies de peixes de caráter reofilico**. 2002. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso, Lavras (Graduação) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

SCORVO FILHO, J. D.; MARTINS, M. I. E.; FRASCÁ-SCORVO, C. M. D. Instrumentos para análise da competitividade na piscicultura. *In: CYRINO, J. E. P. et al. (ed.)*.

Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt, 2004. p. 517-525.

SIQUEIRA-SILVA, D. H.; RODRIGUES, M.; NÓBREGA, R. H. Testis structure, spermatogonial niche and Sertoli cell efficiency in Neotropical fish. **General and Comparative Endocrinology**, New York, v. 273, p. 218-226, 2019.

SOUZA, A. C. V.; COSTA, R. S.; NOVAES, J. L. C. Estimation of the length at first maturity of fish species of the apodi/mossoró river reservoirs in the brazilian semiarid region. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, Szczecin, v. 49, n. 1, p. 195-198, 2019.

SOUSA, F. B. *et al.* Biometric and reproductive characteristics of the King Tiger Plecos *Hypancistrus* sp. "L-333" (Siluriformes: Loricariidae) endemic to the lower Xingu River (Pará, Brasil). **International Journal for Innovation Education and Research**, Dhaka, v. 9, n. 1, p. 336-352, 2021.

STERBA, G. **Freshwater fishes of the world.** New York: Pet Library, 1967.

STREIT JÚNIOR, D. P. **Extrato de hipófise de frango e de coelho como indutores gonadais de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) macho e fêmea, em comparação com o extrato de hipófise de carpa.** 2002. 36f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.

STREIT JÚNIOR, D. P. *et al.* **Recomendações técnicas para a reprodução do Tambaqui.** TERESINA: Embrapa Meio-Norte, 2013. (Documentos, 212). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/83462/1/Doc-212-RecomendacoesTecnicasReproducaoTambaqui.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2021.

SUZUKI, K.; KAWAUCHI, H.; NAGAHAMA, H. Isolation and characterisation of subunits from two distinct salmon gonadotropins. **General and Comparative Endocrinology**, New York, v. 71, n. 2, p. 302-306, 1988.

UNICHAPECÓ. **Atividade visa o repovoamento do rio Uruguai e afluentes.** Chapecó: UNOCHAPECÓ, 23 dez. 2013. Disponível em: <https://www.unochapeco.edu.br/noticias/foz-do-chapeco-e-instituto-goio-en-promovemosoltura-de-alevinos>. Acesso em: 10 set. 2021.

URIBE, M. C.; GRIER, H. J.; MEJÍA-ROA, V. Comparative testicular structure and spermatogenesis in bony fishes. **Spermatogenesis**, Austin, v. 4, n. 3, [art.] e 983400, 2014.

VALENTIN, F. N. *et al.* Testicular differentiation and development in South American catfish, surubim, *Pseudoplatystoma fasciatum*. **Journal of Applied Ichthyology**, Berlin, v. 35, n. 2, p. 529-540, 2019.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia de reprodução de peixes Teleósteos: teoria e prática.** Maringá: EDUEM, 1996. 169 p.

VERSTENGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, New York, v. 57, p. 149-179, 2002.

VIDAL, L. V. O. *et al.* Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, n. 8, p. 1069-1074, 2008.

WALSH, S. J. **A systematic revision of the neotropical catfish family Ageneiosidae (Teleostei, Ostariophysi, Siluriformes)**. 1990. 365 f. Thesis (Doctoral) - University of Florida, Gainesville, 1990.

YANG, H. *et al.* Effect of osmotic immobilization on refrigerated storage and cryopreservation of sperm from a viviparous fish, the green swordtail *Xiphophorus helleri*. **Cryobiology**, Amsterdam, v. 52, p. 209-218, 2006.

ZAKARIA, I. M. Notes on the catfish, *Bagrichthys macracanthus* (Pisces: Bagridae) from Peninsular Malaysia. **Malayan Nature Journal**, Kuala Lumpur, v. 46, n. 1, p. 35-39, 1992.

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A. P. O. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. *In*: CYRINO, J. E. P. *et al.* **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. p. 45-73.

ZANIBONI FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 367-373, 2007.

VITA

Douglas Cosme Selle, nascido no dia 19 de maio de 1992, no município de Porto Alegre, Rio grande do Sul/BR. Filho de Vilson Ricardo Selle e Angelica Celeste Cosme Selle. Ingressou em 1996 na Escola Estadual de Ensino Médio Professor Americo Braga, onde cursou o ensino fundamental até o ano de 2006, no município de Eldorado do Sul/RS, onde viveu até o momento, ingressando 2007 na Escola Técnica de Agricultura em Viamão, cursando ensino médio concomitante ao curso técnico em pecuária, estudando no regime de internato até o ano de 2009. Até o ano de 2012, atuou na área agropecuária, principalmente com bovinos de corte e reprodução de peixes, onde auxiliava o Prof. Victor Menna Barreto Decarli, a ministrar cursos de Piscicultura I e II, quando ingressou na Universidade Luterana do Brasil para cursar Agronomia, concluindo o curso no ano de 2016, quando já estava estagiando na área da aquicultura, na empresa Projeto Pacu, sendo efetivado posteriormente, onde atuou diretamente com montagem de sistemas aquícolas e reprodução de peixes migradores. Até o ano de 2020 atuou na área agropecuária, com consultorias em empresa própria, quando realizou MBA em Gestão do Agronegócio na instituição Uniasselvi, concluindo em 2021. No mesmo ano ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob orientação do Prof. Danilo Pedro Streit Jr e coorientação do Dr. Marco Aurélio Rotta.