



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ALTAMIRA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

THAÍS DA SILVA LOPES

CARACTERIZAÇÃO ESPERMÁTICA DE *Parancistrus nudiventris* RAPP PY-
DANIEL & ZUANON, 2005 (SILURIFORMES, LORICARIIDAE), ESPÉCIE
AMAZÔNICA ENDÊMICA DO RIO XINGU, PARÁ, BRASIL

ALTAMIRA

Março/2025

THAÍS DA SILVA LOPES

CARACTERIZAÇÃO ESPERMÁTICA DE *Parancistrus nudiventris* RAPP PY-DANIEL &
ZUANON, 2005 (SILURIFORMES, LORICARIIDAE), ESPÉCIE AMAZÔNICA
ENDÊMICA DO RIO XINGU, PARÁ, BRASIL

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Pará, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Melo de Sousa

ALTAMIRA

Março/2025

(Ficha Catalográfica – elaborar no site: www.bcficat.ufpa.br e inserir nesta página)

THAÍS DA SILVA LOPES

CARACTERIZAÇÃO ESPERMÁTICA DE *Parancistrus nudiventris* RAPP PY-
DANIEL & ZUANON, 2005 (SILURIFORMES, LORICARIIDAE), ESPÉCIE
AMAZÔNICA ENDÊMICA DO RIO XINGU, PARÁ, BRASIL

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Pará, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação.

Data da aprovação: 21/03/2025

Banca Examinadora:

Dr. George Shigueki Yasui

Examinador externo – Universidade de São Paulo

Dra. Jôsie Schwartz Caldas

Examinador externo -

Dr. Diego Maia Zacardi

Examinador interno - Universidade Federal do Oeste do Pará

Dr. Marcelo Moraes Andrade

Examinador externo – Universidade Federal do Maranhão

Dra. Fernanda Nogueira Valentin

Examinador externo – Universidade Federal do Pará

"Dedico este trabalho ao meu pai Luiz Lopes (in memoriam), cuja memória sempre está eternamente em meu coração, e à minha mãe Selma Lúcia, pela força, amor e apoio incondicional."

AGRADECIMENTOS

Não há outra forma de iniciar estes agradecimentos senão expressando minha eterna gratidão aos meus pais. Eles foram muito mais do que um apoio nos momentos difíceis, foram a base sólida que sustentou minha caminhada e os maiores incentivadores na concretização dos meus sonhos. Ao meu pai, que infelizmente já não está entre nós, permanece vivo em minhas lembranças e em tudo o que me ensinou, sendo uma fonte viva de incentivo aos meus sonhos. À minha mãe Selma Lúcia, com seu apoio incansável foi meu porto seguro em todos os momentos, foi a luz da qual eu precisava para levantar e seguir em frente. Sem o amor, a força e o incentivo inspirador deles, completar essa jornada teria sido impossível.

Aos meus irmãos Luiz Lopes, Gustavo Lopes, Ramon Lopes e Maycon Lopes, meu agradecimento especial por sempre estarem ao meu lado mesmo ao morarem km de distância. Obrigada por serem minha família, por todo incentivo e companheirismo, mesmo que às vezes fosse só para rir das minhas desgraças ou me lembrar que “feda, tu és muito chata!”. Com jeitos únicos (e às vezes bem questionáveis) de demonstrar amor, vocês souberam transformar os momentos difíceis em piadas internas e as minhas quedas em histórias engraçadas para contar depois. Obrigada por serem meu apoio, por serem o combustível que me fizeram continuar e conquistar meus objetivos mesmo quando estava desmoronando.

Meu reconhecimento e agradecimento ao meu pai científico, um grande exemplo de pesquisador, meu orientador Dr. Leandro Melo de Sousa. Seu amor pela ciência, é e sempre será um grande legado deixado a todos os seus orientandos. Muito obrigado pelo aceite em me orientar durante esses anos, pelo esforço e paciência em me ensinar a ser uma pesquisadora, pelas sugestões e dicas para o meu crescimento profissional. Minha gratidão será eterna.

Costumo afirmar que Altamira foi um divisor de águas na minha vida, no sentido pessoal, mental e profissional. E isso só foi possível graças aos momentos compartilhados por tantos amigos conquistados. Mas quero dedicar meu agradecimento em especial à Eris Amorim e Fábio Barros. Vocês dois foram uma fonte de dopamina tão grande, que quando eu pensei em desistir, eu olhei para o lado e vi ambos segurando a minha mão e me ajudando a criar o impulso necessário para alcançar meus objetivos. Eu não seria nem um 1/3 da profissional que sou hoje sem a ajuda e incentivo deles.

Fábio Barros, obrigada por todos os ensinamentos, risadas, orientação, apoio, paciência e principalmente, amizade, você me inspira todos os dias. Eris Amorim, você foi a maior e melhor coisa que esse mestrado me proporcionou, eu não consigo dimensionar palavras de agradecimentos pela sua amizade, eu lhe admiro demais e sou tão grata por ter você em minha vida, obrigada por ter sido a minha família em Altamira.

Também quero deixar registrado meu agradecimento especial a alguém que me incentivou e me acompanhou desde o início dessa jornada, ao meu irmão de outra mãe Railson Figueiredo. Nós dois iniciamos essa jornada juntos e vamos concluir juntos. Ele

em São Paulo, eu perturbava seu juízo, eu em Altamira, ele perturbava o meu. Uma amizade que vai além desse universo, e eu não tenho palavras que descrevam o quão a minha vida é melhor porque eu tenho você nela.

Não poderia deixar de expressar meus agradecimentos a Marina Mendonça, minha mãe científica. Desde a graduação me coleí no cangote dela e não soltei mais. Desde quando pensei em realizar o seletivo do mestrado, o seu apoio foi essencial em toda a minha trajetória. Mesmo distante, sempre esteve presente, mesmo não sendo sua aluna, sempre me ensinou e me estimulou a ser uma profissional melhor. Nada seria possível sem o seu apoio e companheirismo. Obrigada por tudo.

Ademais, gostaria de agradecer as amigas conquistadas e fortalecidas durante essa trajetória, em especial William Gonçalves por todos os momentos de risadas, ajuda, incentivo e amizade. Também quero externar meu muito obrigada à Aline Cristina, Marcio Portal, Ariane Brito, Marcelo Moreira, Sol Santana, Igor Araújo (obrigada por toda assistência jurídica quando foi necessário), Ivanessa Araújo, Maria da Paz (seu amor e cuidado me fazem ter sede de vencer), às meninas do PPGBC Maria Danyelle, Bruna Uana, Cassiele Fonseca e Esiene Chaves (por todas os momentos de risadas, conversas, companheirismo, comidinhas e muitos choros) e a Moebio Menezes (por todas os momentos de alegria e voltas na nossa lancha/Laquax no Rio Xingu).

Gostaria de agradecer a todos os colegas do Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu (Laquax), os momentos de compartilhamento de aprendizagem foram fundamentais para meu crescimento profissional.

Quero agradecer a todos os docentes do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação – UFPA, em especial à Tatiana Pereira por toda orientação e cuidado durante esses anos de mestrado.

A Universidade Federal do Pará – campus Altamira em ofertar o Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação. Que esse PPG resista.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que participaram direta ou indiretamente nessa minha trajetória, quero externar meu muito obrigada!

“Não importa o que aconteça, continue a nadar”

Graham Walterns (Procurando Nemo)

RESUMO GERAL

A caracterização seminal é essencial para o desenvolvimento de protocolos para reprodução artificial, possibilitando um manejo de conservação *ex situ* de espécie. O conhecimento sobre os parâmetros seminais, é o primeiro passo para a propagação artificial pois é uma ferramenta de predição da capacidade fecundante e potencialmente aplicável em espécies endêmicas que sofrem possíveis impactos em decorrência de alterações em seu habitat natural, como o *Parancistrus nudiventris*. O objetivo desse trabalho é realizar a caracterização espermática de *Parancistrus nudiventris* selvagens. Para isso, foram analisados 22 espécimes machos capturados direto da natureza (peso \pm EP; comprimento padrão \pm EP), sendo os procedimentos realizados no mesmo dia. Após anestesiados com eugenol (30 mg. L⁻¹), o sêmen foi então coletado através de massagem abdominal em sentido cefalocaudal, e o ejaculado coletado com micropipetas calibradas para 5 μ L. Cada pipeta, representando uma fração do ejaculado, foi empregada para se avaliar um parâmetro espermático, sendo a primeira para se analisar a motilidade computadorizada (CASA) e as demais alíquotas foram acondicionando em macrotubos de 1,5 mL para avaliação dos parâmetros de morfologia, morfometria e integridade de membrana. A motilidade espermática e parâmetros cinéticos foram estimadas pela captura do vídeo, avaliando os seguintes parâmetros: MOT (%), VCL (μ m s⁻¹), VAP (μ m s⁻¹), VSL (μ m s⁻¹), STR (%), WOB (%), PROG (μ m), BCF (Hz) e SPZs. A concentração espermática foi determinada através de hemocitômetro. A morfometria foi determinada através do software ImageJ para avaliação das proporções em micrômetros das estruturas espermáticas. As análises estatísticas foram realizadas usando o software R Studio, pelo teste de análise de variância ANOVA para dados paramétricos e Kruskal-Wallis para dados não paramétricos, considerando um valor de $P < 0,05$ para significância dos dados. Os resultados demonstram que, a duração de motilidade de *Parancistrus nudiventris* é de $5,29 \pm 2,57$ minutos, com motilidade espermática em média de 82,91%, com velocidades VCL, VSL e VAP de 182,12 μ m, 133,13 μ m e 167,88, respectivamente. Quanto a morfometria, o espermatozoide de *P. nudiventris* apresenta comprimento total em média $29,44 \pm 3,06$ μ m, enquanto a integridade de membrana demonstrou 92,56% de espermatozoides íntegros. A morfologia revelou que 34,62% dos espermatozoides avaliados possuíam alguma anomalia secundária, sendo a flagelo enrolado ($15,12 \pm 6,3\%$) anormalidade mais presente nos espermatozoides, enquanto apenas 5,17% detinham de alguma anomalia primária, sendo cabeça degenerada ($2,68 \pm 5,17\%$) a mais frequente. Neste estudo foram analisados pela primeira vez os índices espermáticos de *Parancistrus nudiventris*, possibilitando a caracterização da morfometria, morfológica, integridade e parâmetros cinéticos de motilidade e aplicação em estratégias de conservação envolvendo a propagação artificial.

Palavras-chave: *Parancistrus nudiventris*, biologia reprodutiva, qualidade espermática, motilidade.

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Estatística descritiva dos dados biométricos dos espécimes (n = 22) e das características morfológicas e integridade dos espermatozoides de *Parancistrus nudiventris*.....35

Tabela 2: Estatística descritiva dos parâmetros cinéticos dos espermatozoides de *Parancistrus nudiventris* em 30s após ativação.....38

LISTA DE FIGURA

Figura 1: Morfometria com média \pm desvio padrão de espermatozoides normais de *Parancistrus nudiventris*, onde, as medidas expressas são: ***Comp. Total:** Comprimento total; ***L. cabeça:** Largura da cabeça (μm); ***C. flagelo:** comprimento do flagelo.....34

Figura 2: Representação visual da trajetória percorrida pelos espermatozoides de *Parancistrus nudiventris* a partir de análises pelo sistema CASA.....37

Figura 3: Representação gráfica da motilidade e parâmetros cinéticos (CASA) de *Parancistrus nudiventris* durante 220 segundos de avaliação. As letras correspondem ao parâmetro analisado, sendo: **A:** motilidade; **B:** Velocidade curvilínea (VCL $\mu\text{m/s}$); **C:** Velocidade média do caminho (VAP $\mu\text{m/s}$); **D:** Velocidade em linha reta (VSL $\mu\text{m/s}$); **E:** Linearidade (LIN %); **F:** Oscilação (WOB %); **G:** Motilidade progressiva (PROG μm); **H:** Frequência de batimento flagelar (BCF Hz)40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	15
1.1 Biodiversidade, ecologia e características de <i>Parancistrus nudiventris</i>	15
1.2 Importância da caracterização espermática para a conservação <i>ex situ</i> de <i>Parancistrus nudiventris</i>	16
2. OBJETIVOS GERAIS.....	19
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos Específicos.....	19
3.REFERÊNCIAS.....	20
CAPITULO I - Caracterização Seminal de <i>Parancistrus nudiventris</i> Rapp Py-Daniel & Zuanon, 2005 (Siluriformes, Loricariidae), espécie amazônica endêmica do Rio Xingu, Pará, Brasil.....	23
1. INTRODUÇÃO... ..	25
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
2.1 Autorizações e ética em âmbito laboratorial.....	27
2.2 Coleta Sêmen.....	28
2.3 Caracterização espermática.....	29
2.3.1 Avaliação dos parâmetros cinéticos	30
2.3.2 Concentração espermática.....	31
2.3.3 Avaliação de morfologia.....	32
2.3.4 Avaliação de Integridade de membrana.....	32
2.3.5 Avaliação da morfometria espermática.....	32
2.4 Análises estatísticas.....	33
3. RESULTADOS.....	34
3.1 Qualidade seminal de <i>Parancistrus nudiventris</i>	34
3.2 Parâmetros de motilidade e cinética espermática de <i>Parancistrus nudiventris</i>	36
4. DISCUSSÃO.....	41
4.1 Qualidade seminal de <i>Parancistrus nudiventris</i> a partir de uma perspectiva ecológica.....	41
4.2 Morfometria espermática, Integridade de membrana e Morfologia dos espermatozoides de <i>Parancistrus nudiventris</i>	47

4.3 Motilidade espermática e parâmetros cinéticos avaliados por sistema computadorizado (CASA).....	51
5. CONCLUSÃO.....	54
6. REFERENCIAS.....	55

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Biodiversidade, ecologia e características de *Parancistrus nudiventris*

Os peixes representam o grupo de vertebrados com maior biodiversidade do mundo. Entre as 60.000 espécies de vertebrados descritas (Nelson et al., 2016; Polaz; Ribeiro, 2017), 37.106 correspondem a espécies válidas descritas de peixes (Fricke; Eschmeyer, 2025), o que equivale aproximadamente 61% entre os vertebrados. Destas, 18.898 são espécies de água doce (Fricke; Eschmeyer, 2025), destacando-se a Bacia Amazônica concentrando a maior biodiversidade de peixes de água doce Neotropicais do mundo (Albert; Reis, 2011), com cerca de aproximadamente 1.089 espécies endêmicas registradas, com descobertas em franca expansão (Fitzgerald et al., 2018).

A ictiofauna Neotropical corresponde a aproximadamente 77% de toda riqueza de espécies de água doce (Alberto et al., 2011). Dentro dessa diversidade, a família Loricariidae destaca-se como uma das mais ricas, com aproximadamente 1068 espécies válidas descritas (Fricke; Eschmeyer, 2025), ocupando a segunda posição em riqueza de espécies entre todas as famílias de peixes de água doce (Roxo et al., 2019).

Toda a diversidade de Loricariidae está agrupada em 6 grandes subfamílias: Rhinelepineae, Loricariinae, Hypoptopomatinae, Hypostominae, Delturinae e Lithogeneinae (Roxo et al., 2019). São bagres que ocupam ambientes lóticos e lênticos (Armbruster, 2004), com variações de tamanho, caracterizados por um corpo revestido por placas dérmicas ossificadas que se estendem ao longo do corpo (Baumgartner et al., 2012), apresentando projeções externas denominadas odontódeos (Roxo et al., 2019). Além disso, possuem uma boca em posição ventral, cujos lábios formam um disco oral adaptado para aderir aos substratos de seus habitats de distribuição, auxiliando na fixação e alimentação (Geerinckx et al., 2011).

Pertencente à subfamília Hypostominae, *Parancistrus nudiventris* Rapp Py-Daniel & Zuanon, 2005 é um peixe ornamental que se destaca por seus padrões de pigmentação únicos. Em um fundo escuro, pontos ou pintas azuladas criam um contraste vibrante, conferindo um visual elegante e chamativo. Seu corpo, achatado dorso-ventralmente, é coberto por placas dérmicas ossificadas que se estendem por todo o corpo, exceto na região abdominal, onde a pele é nua (Rapp Py-Daniel & Zuanon, 2005).

Popularmente conhecida como acari-bola-azul e pelos códigos L031, L176 e L300 no mercado aquarista (Brasil, 2018), é uma espécie com apreciação em meio a capturas de

exemplares para o comércio de aquarofilia (Beltrão et al., 2021), porém, a captura para esse mercado não representa risco de impactos significativos sobre as populações naturais da espécie (Brasil, 2018).

Parancistrus nudiventris é caracterizado por ser um peixe de hábito noturno, que possui preferência alimentar principalmente por algas e biofilme, no entanto, com evidências de plasticidade alimentar para microcrustáceos, larvas de insetos aquáticos e restos de plantas (Rapp Py-Daniel; Zuanon, 2005).

É um peixe amazônico reofílico com distribuição restrita ao Rio Xingu, onde habita preferencialmente zonas de substratos rochosos em ambientes de corredeira, especialmente na região da Volta Grande, próximo à cidade de Altamira, no estado do Pará (Fitzgerald et al., 2018). Sua ocorrência está limitada a uma área de aproximadamente 4.069 km² nos trechos do Rio Xingu, sem registro para o Iriiri (Brasil, 2018).

Esta espécie habita ambientes lóticos, embora alguns juvenis sejam encontrados em trechos do Rio Xingu em áreas de baixa correnteza (Fitzgerald et al., 2018). Há diferenças entre espécimes machos e fêmeas, onde os machos possuem cabeça com maior largura e odontódeos bem desenvolvidos na região opercular, além de conferirem espinhos nas nadadeiras peitorais, que durante período reprodutivo, ficam mais acentuados na parte posterior ao corpo (Brasil, 2018), características essas menos evidentes em espécimes fêmeas.

Em virtude de ameaças enfrentadas em sua área de distribuição endêmica em decorrência de usinas de represamento no curso do Rio Xingu, que resultaram em significativas alterações ambientais, a espécie foi incluída no Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada, inicialmente com o status de conservação de Vulnerável (VU) (Brasil, 2018). Posteriormente, por meio da portaria do Ministério Ambiente (MMA) nº 148, de 7 de junho de 2022, o status de conservação foi revisado e elevado para Em Perigo (EN) (Brasil, 2022).

Isso enfatiza a consolidação de estratégias de conservação, principalmente no tocante à reprodução. Até o momento, são existentes poucos estudos sobre a biodiversidade e ecologia de *Parancistrus nudiventris*, principalmente sobre os aspectos de suas estratégias reprodutivas, o que denota uma atenção essencial, haja vista que é restrita de uma área atualmente impactada por empreendimento sinérgicos.

1.2 Importância da caracterização espermática para a conservação *ex situ* de *Parancistrus nudiventris*

As crescentes ameaças à biodiversidade de peixes amazônicos têm despertado a preocupação sobre a manutenção e equilíbrio dos organismos de ecossistemas aquáticos, principalmente de espécie com características de endemismo. As modificações de ambientes provenientes de ações antrópicas causam desequilíbrios ecossistêmicos que resultam em intensa redução e alteração de habitats, gerando perdas inestimáveis a biodiversidade local (Sawakuchi et al., 2015; Winemiller et al., 2016), podendo ocasionar extinção de algumas espécies de peixes.

Dentre as ações antrópicas, as usinas de represamento hidrelétricos são os principais empreendimentos que assolam os rios da Bacia Amazônica. Esses empreendimentos representam uma ameaça significativa à ictiofauna ornamental, pois promove mudanças hidrológicas que alteram um ambiente lótico e com heterogeneidade ambiental, resultando na interrupção de rotas migratórias, alterações nos pulsos de inundações, perda e redução de habitats devido ao barramento ou na alteração desses ambientes naturais (Choueri; Azevedo, 2017; Araujo et al., 2017), afetando negativamente a conservação da biodiversidade (Winemiller et al., 2016).

Os espermatozoides de peixes de água doce são altamente sensíveis às mudanças nas condições ambientais (Kholodny et al., 2019), tendo em vista que, em suma maioria, os peixes realizam fertilização externa, com parâmetros espermáticos ativados e regulados diretamente na água (Mishu et al., 2020). Nesse cenário, espermatozoides maduros são liberados no meio aquático, e em resposta às mudanças nos gradientes iônicos extracelulares detectadas por canais presentes na membrana espermática (Bode; Labbé, 2010), inicia-se ativação da motilidade espermática (Morisawa, 1994; Bode; Labbé, 2010).

Nessas circunstâncias, estudos de caracterização espermática configuram-se como uma ferramenta promissora para o desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas (Barros et al., 2025), pois análise de parâmetros espermáticos desempenha um papel essencial na compreensão das estratégias reprodutivas de uma espécie e sua interação com o ambiente o qual está inserida (Vazzoler, 1996; Andrade et al., 2015), contribuindo de forma significativa para a conservação *ex situ* da espécie.

O conhecimento sobre os parâmetros seminais desempenha um papel essencial em estudos de reprodução de peixes, pois fornece informações detalhadas sobre as características espermáticas, permitindo que se tenham informações a respeito das estratégias reprodutivas da espécie, contribuindo para táticas de conservação e para desenvolvimento de técnicas de

reprodução *ex situ* (Lenz et al., 2018), pois, auxilia na compreensão da relação da espécie com o ambiente natural, favorecendo conhecimentos para estratégias de mitigação na conservação da espécie.

Associado a isso, no processo reprodutivo dos peixes, diversos fatores são considerados para uma reprodução bem-sucedida. Nos machos, a qualidade espermática é um fator determinante para a fertilização e sucesso nas desovas de modo natural ou em cativeiros, onde, características como motilidade, volume, velocidade espermática, concentração, morfologia, integridade de membrana e outros, são parâmetros espermáticos vitais para o sucesso reprodutivo da espécie (Kowalski; Cejko, 2019).

Além disso, os estudos que visam avaliação da qualidade do esperma de peixes são determinados a partir de seu potencial fecundante (Bobe e Labbé, 2009). Em virtude disso, os parâmetros que abrangem desde a capacidade cinética à morfológica são relacionados como preditores da fertilização (Dzyuba et al., 2016).

Considerando isso, a caracterização espermática consiste em analisar características dos espermatozoides, como volume, concentração e outros, além de parâmetros de motilidade, velocidade e duração, sendo aspectos fundamentais para compreensão da fisiologia espermática (Leite, 2021). Além disso, esses parâmetros espermáticos também possuem relação direta com a energia armazenada dos espermatozoides (Dzyuba et al., 2016; Leite, 2021), o que evidencia adaptação reprodutiva da espécie às condições ambientais de seu habitat, haja vista que parâmetros como motilidade e velocidades espermáticas estão associadas com as características do ambiente em que vivem (Morita et al., 2014).

Com isso, compreender as características espermáticas de *Parancistrus nudiventris* torna-se urgente e essencial para entendimento de seus aspectos reprodutivos, cuja distribuição restrita ao Rio Xingu, uma área impactada por empreendimentos hidrelétricos, a torna particularmente vulnerável a alterações ambientais e ao agravamento do seu status de conservação, podendo comprometer a sua reprodução. Além disso, a compreensão sobre suas características espermáticas auxiliará no desenvolvimento de técnicas de reprodução *ex situ*, além de contribuir para o entendimento das táticas e estratégias reprodutivas da espécie.

Adicionalmente, são escassos os estudos referentes às estratégias reprodutivas da espécie, principalmente no que tange a caracterização seminal.

2. OBJETIVOS GERAIS

2.1 Objetivo Geral

Fazer a caracterização espermática de *Parancistrus nudiventris* selvagens por meio de análise computadorizada, visando compreender as táticas e estratégias reprodutiva da espécie, bem como ajudar no desenvolvimento de protocolos de reprodução *ex situ*, com o intuito de auxiliar programas de conservação da espécie.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a qualidade seminal por meio do volume relativo e total do sêmen coletado *in natura* de *Parancistrus nudiventris*;
- Analisar as características dos espermatozoides por meio de descrição da morfologia padrão, identificando anomalias primárias e secundárias, integridade de membranas e seus padrões morfométricos;
- Investigar os padrões de motilidade da espécie, através do tempo, percentual de espermatozoides moveis, progressividade e demais parâmetros cinéticos de forma objetiva através de análises computadorizadas;
- Quantificar outros parâmetros seminais como: a concentração e produção espermática de *Parancistrus nudiventris*.

3. REFERÊNCIAS

Albert, J.S, Reis, R.E, (2011). Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes. University of California Press. Disponível em > <https://www.researchgate.net/publication/281739310>

Alberto, J.S., Petry, P., Reis, R.E., (2011). Major Biogeographic and Phylogenetic Patterns'. in James Albert (ed.). Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes (Oakland, CA, 2011; online edn, California Scholarship Online, 22 Mar. 2012). Doi: <https://doi.org/10.1525/california/9780520268685.003.0002>

Andrade, E.S, Andrade, E.A, Felizardo, V.O, Paula, D.A.J, Veras, G.C, Murgas, L.D.S, (2015). Reproductive biology of freshwater fish. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.195-201, jan./mar. 2015. Disponível em > www.cbra.org.br

Araújo, J.G., Santos, M.A.S., Rebello, F.K., Isaac, V.J. (2017). Cadeia comercial de peixes ornamentais do Rio Xingu, Pará, Brasil. B. Inst. Pesca, São Paulo, 43(2): 297- 307, 2017. Doi: [10.20950/1678-2305.2017v43n2p297](https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n2p297)

Armbruster, J. W, (2004). Phylogenetic relationships of the suckermouth armoured catfishes (Loricariidae) with emphasis on the Hypostominae and the Ancistrinae. Zoological Journal of the Linnean Society, v. 141, n. 1, p. 1-80, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2004.00109.x>

Barros, F.J.T., Yasui, G., Soares, A.X., Paula, E.A., Nascimento, T.P., Silva, M.P., Bandeira, M.M., Rodrigues, E.L.C., Lopes, T.S., Sousa, L.M., (2025). Characterization of semen from *Baryancistrus xanthellus* Rapp Py-Daniel, Zuanon & Ribeiro de Oliveira, 2011 (Siluriformes, Loricariidae), an endemic catfish species from the Xingu River, Pará, Brazil.

Baumgartner, G, Pavanelli, C.S, Baumgartner, D, Bifi, A.G, Debona, T, Frana, V. A, (2012). Peixes do baixo rio Iguaçu [online]. Maringá: Eduem, 2012. Siluriformes. pp. 101-146. Disponível em > <http://books.scielo.org>

Beltrão, H, Benzaken, Z.S, Magalhães, E.R.S, Sousa, R.G.C. (2021). Trafficking Of Ornamental Fish In The Brazilian Amazon. Boletim Do Instituto De Pesca. Online Version. Doi: <https://doi.org/10.20950/1678-2305/Bip.2021.47.E639>

Bobe. J., Labbé, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology. Volume 165, Edição 3, Páginas 535-548. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.011>

Brasil, (2018). Plano De Recuperação Para Espécies Ameaçadas De Peixes Capturados Para Fins Ornamentais Nas Bacias Hidrográficas Dos Rios Xingu e Tapajós. Ministério do Meio Ambiente. Instituto de Conservação Chico Mendes. Disponível em > <https://www.gov.br/>

Brasil, (2022). Ministério do Meio Ambiente. Atualização da Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção. Instituto de Conservação Chico Mendes. Disponível em >

https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_mma_148_2022_altera_anexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacadas_extincao.pdf

Choueri, R.B., Azevedo, J.A.R. (2017). Biodiversity and impact of large hydroelectric projects in the Tocantins-Araguaia River basin district: a systemic analysis. *Soc. & Nat.*, Uberlândia, 29 (3): 443-457, set/dez/2017. Doi: <https://doi.org/10.14393/SN-v29n3-2017-6>

Dzyuba, B., Bondarenko, O., Fedorov, P., Gazo, I., Prokopchuk, G., Cosson, J., (2016). Energetics of fish spermatozoa: The proven and the possible. *Aquaculture*. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.038>

Fitzgerald, D.B, Perez, M.H.S, Melo, L.S, Gonçalves, A.L, Rapp Py-Daniel, L, Lujan, N.K.; Zuanon, J, Winemiller, K.O, (2018). Diversidade e estrutura das comunidades de peixes que habitam as corredeiras do Rio Xingu: implicações para a conservação diante do desenvolvimento de uma hidrelétrica de grande escala. Disponível em > https://site-antigo.socioambiental.org/sites/blog.socioambiental.org/files/nsa/arquivos/diversidade_e_estrutura_das_comunidades_de_peixes_que_habitam_as_corredeiras_do_rio_xingu_implicacoes_para_a_conservacao_diante_do_desenvolvimento_de_uma_hidreletrica_de_grande_escala_2.pdf

Fricke,R., Eschmeyer,W.N., R. van der Laan, (2025). Catálogo de peixes de Eschmeyer: Gêneros, Espécies, Referências. Versão eletrônica acessada em 06 de janeiro de 2025. Disponível em > <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>

Geerinckx, T., Herrel, A., Adriaens, D. (2011). Suckermouth Armored Catfish Resolve the Paradox of Simultaneous Respiration and Suction Attachment: A Kinematic Study of *Pterygoplichthys disjunctivus*. *Journal of experimental zoology*. 315:121–131, 2011. DOI: [10.1002/jez.656](https://doi.org/10.1002/jez.656)

Kholodnyy, V., Gadêlha, H., Cosson, J., Boryshpolets, S. (2019). How do freshwater fish sperm find the egg? The physicochemical factors guiding the gamete encounters of externally fertilizing freshwater fish. *Reviews in Aquaculture* (2020) 12, 1165–1192. Doi: <https://doi.org/10.1111/raq.12378>

Kowalski, R.K., Cejko, B.I., (2019). Sperm quality in fish: Determinants and affecting factors. *Theriogenology* 135, 94–108. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.06.009>

Lenz, D. R., Victorio, A.M., Lima, M.C.C., Prado, T.f., De Paula, F.G., Meirinhos, M.L.G. Arnhold, E. (2018). Semen characterization of tambaqui (*Colossoma macropomum*) during the breeding season. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, Lages, v. 17, n. 4, p. 603–607, 2018. Doi: <https://doi.org/10.5965/223811711732018603>

Mishu, M. M., Mostakim, G. M., Khatun, M. M., Rahman, M. K., Shahjahan, M., Islam, M. S., (2020). Sperm movement and morphological changes in the silver barb (*Barbonymus*

gonionotus) exposed to quinalphos. Environmental and Sustainability Indicators. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indic.2020.100083>

Morisawa, M. (1994). Cell signaling mechanisms for sperm motility. *Ciência.*, 11, pp. 647 – 662. Disponível em > <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7765853/>

Nelson, J.S., Terry, C.G., Mark, V.H.W, (2016). Fish of the world. Fifth Edition. Disponível em > <https://lccn.loc.gov/2015037522>

Polaz, C.N.M, Ribeiro, K.T, (2017). Conservação de peixes continentais e manejo de unidades de conservação. Editora: Biodiversidade Brasileira. v.7, n.1. Doi: <https://Doi.org/10.37002/biodiversidadebrasileira.v7i1.722>

Rapp Py-Daniel, L. H, Zuanon, J, (2005). Description of a new species of *Parancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) from the rio Xingu, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, v. 3, n. 4, p. 571-577, 2005. Doi: <https://Doi.org/10.1590/S1679-62252005000400014>

Roxo, F.F., Ochoa, L.E., Sabaj, M. H., Lujan, N.K., Covain, R., Silva, G.S.C., Melo, B.F., Albert, J.S., Chang, J., Foresti, F., Alfaro, M.E., Oliveira, C. (2019). Phylogenomic reappraisal of the Neotropical catfish family Loricariidae (Teleostei: Siluriformes) using ultraconserved elements. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. volume 135, June 2019, Pages 148-165. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.02.017>

Sawakuchi, A.O, Hartmann, G.A, Sawakuchi, H.O, Pupim, F.N, Bertassoli, D.J, Parra, M.; et al. (2015). The Volta Grande do Xingu: reconstruction of past environments and forecasting of future scenarios of a unique Amazonian fluvial landscape. *Scientific Drilling*, 3: 1-12. Doi: <https://Doi.org/10.5194/sd-20-21-2015> Le

Vazzoler, A. E. A. M. (1996). *Biologia da Reprodução de peixes Teleósteos: Teoria e Prática*. Maringá: EDUEM. p. 169, 1996. Disponível em: <http://old.periodicos.uem.br/>

Winemiller, K.O, McIntyre, P.B, Castello, L, Fluet-Chouinard, E, Giarrizzo, T, Nam, S, Baird, I.G, Darwall, W, Lujan, N.K, Harrison, I, Stiassny, M.L.J., Silvano, R.A.M, Fitzgerald, D.B, Pelicice, F.M., Agostinho, A.A., Gomes, L.C., Albert, J.S., Baran, E., Petrere Jr., M., Zarfl, C., Mulligan, M, Sullivan, J.P, Arantes, C.C, Sousa, L.M, Koning, A.A, Hoinghaus, D.J, Sabaj, M, Lundberg, J.G, Armbruster, J, Thieme, M.L, Petry, P, Zuanon, J, et al., (2016). Balancing hydropower and biodiversity in the Amazon, Congo, and Mekong. *Science* 351, 128–129. DOI: [10.1126/science.aac7082](https://doi.org/10.1126/science.aac7082)

Este capítulo será formatado seguindo as normas da revista Journal of Fish Biology, disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/10958649/homepage/forauthors.html>

**CAPÍTULO I– CARACTERIZAÇÃO ESPERMÁTICA DE *Parancistrus nudiventris* RAPP
PY-DANIEL & ZUANON, 2005 (SILURIFORMES, LORICARIIDAE), ESPÉCIE
AMAZÔNICA ENDÊMICA DO RIO XINGU, PARÁ, BRASIL**

1 **CARACTERIZAÇÃO ESPERMÁTICA DE *Parancistrus nudiventris* RAPP PY-**
2 **DANIEL & ZUANON, 2005 (SILURIFORMES, LORICARIIDAE), ESPÉCIE**
3 **AMAZÔNICA ENDÊMICA DO RIO XINGU, PARÁ, BRASIL**

4
5
6 LOPES, Thaís da Silva¹, BARROS, Fábio José Torres², PAULA, Eris Amorim de³, DE
7 SOUSA, Leandro Melo⁴

8
9 1- Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Universidade Federal do
10 Pará, Campus de Altamira, Rua Cel. José Porfírio, 2515, área 2, Altamira, PA, Brasil.
11 Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu, Universidade Federal do Pará,
12 Campus de Altamira, CEP: 68.372-040, Altamira, PA, Brasil. (autor correspondente).
13 thais.lopes@soure.ufpa.br, ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-7750-8527>

14
15 2- Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Museu Paraense Emílio Goeldi. Av. Perimetral,
16 1901, Terra Firme, CEP: 66077-830, Belém, PA, Brasil. Laboratório de Aquicultura de Peixes
17 Ornamentais do Xingu, Universidade Federal do Pará, Campus de Altamira, CEP: 68.372-040,
18 Altamira, PA, Brasil. fabio.barros@altamira.ufpa.br, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4289-797>

19
20
21 3- Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Pará, Campus de Altamira,
22 CEP: 68.372-040. amorimdepaulaeris@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-3983-3100>

23
24
25 4- Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Campus de Altamira,
26 Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu, Universidade Federal do Pará.
27 leandromsousa@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0793-9737>

28
29 **RESUMO**

30
31 *Parancistrus nudiventris* é uma espécie de peixe ornamental amazônico com distribuição
32 restrita à bacia do Rio Xingu, classificada com *status* de conservação Em Perigo (EN). O
33 habitat da espécie tem sido severamente impactado por projetos sinérgicos de represamento e
34 mineração do rio Xingu que afetam negativamente a biodiversidade aquática. Diante desse
35 cenário, torna-se essencial investigar os parâmetros reprodutivos da espécie, para o
36 desenvolvimento de técnicas reprodutivas em cativeiro para conservação *ex situ*. Assim, o
37 presente trabalho avaliou as características espermáticas *in natura* de *Parancistrus nudiventris*
38 selvagens. Foram analisados 22 espécimes machos sexualmente maduros (comprimento padrão
39 17,62 cm ± 5,88 cm e peso 139,82 g ± 5,10 g). Após anestesiados com eugenol (30 mg L⁻¹), o
40 esperma foi coletado sem indução hormonal, extrusado por meio de massagem abdominal. A
41 motilidade espermática foi estimada por análise objetiva, utilizando captura de vídeo para
42 análise computadorizada assistida (CASA), avaliando os parâmetros MOT, VCL, VAP, VSL,

43 WOB, PROG e BCF. Para integridade de membrana e morfologia, foram utilizados
44 microscopia de luz e esfregaços corados com eosina-nigrosina e rosa bengala, respectivamente.
45 A morfometria espermática foi estimada por meio do software gratuito ImageJ, e concentração
46 espermática foi analisada a partir de contagem das células na câmara Neubauer. Para todos os
47 dados foram considerados um valor de significância de ($P < 0,05$). A motilidade progressiva
48 foi verificada usando o teste ANOVA para os dados paramétricos e o teste Kruskal-Wallis para
49 os dados não paramétricos, enquanto a influência das anomalias sobre os padrões cinéticos dos
50 espermatozoides foi analisada através do teste de correlação de Pearson. A espécie apresentou
51 uma duração de motilidade de $5,29 \pm 2,57$ min., com diminuição significativa após 150
52 segundos, enquanto as velocidades VCL ($182,12 \pm 26,94$ $\mu\text{m/s}$), VAP ($167,88 \pm 29,72$ $\mu\text{m/s}$) e
53 VSL ($133,13 \pm 25,75$ $\mu\text{m/s}$) apresentaram médias semelhantes, diminuindo após 60 segundos
54 de ativação. Além disso, os espermatozoides apresentaram $92,56 \pm 4,11\%$ de membranas
55 integras, com espermatozoides que mediam em média $29,44 \pm 3,06$ μm , com comprimento
56 flagelar de $25,08 \pm 3,04$ μm e largura da cabeça em $4,55 \pm 3,04$ μm . Nosso estudo demonstrou
57 que é possível coletar sêmen de *Parancistrus nudiventris* selvagens sem uso de indução
58 hormonal. Foi observado uma boa qualidade seminal e bons índices de normalidades
59 espermáticas. Todos os resultados apresentados são inovadores e constituem o primeiro passo
60 para futuros esforços de conservação *ex situ* da espécie.

61

62 **Palavras-chave:** Análise espermática, Conservação *ex situ*, Análise de esperma assistida por
63 computador (CASA), Biodiversidade, Biotecnologia, Peixes de água doce.

64

65

66 1. INTRODUÇÃO

67 *Parancistrus nudiventris* Rapp Py-Daniel & Zuanon, 2005 é uma espécie ornamental
68 da família Loricariidae pertencente à subfamília Hypostominae, popularmente conhecido como
69 acari-bola-azul e identificado com os códigos L31, L176 e L300 no mercado aquarista. É um
70 peixe amazônico reofílico com distribuição restrita ao Rio Xingu, habitando preferencialmente
71 zonas de substratos rochosos, especialmente na região da Volta Grande (Fitzgerald et al., 2018),
72 com ocorrência limitada a uma área de aproximadamente 4.069 km², sem registro para o Iriiri
73 (Brasil, 2018).

74 É uma espécie bentônica de hábito noturno que despertou atenção devido às ameaças
75 enfrentadas resultantes de projetos sinérgicos de represamento e mineração no Rio Xingu
76 (Tólofi et al., 2017; Sousa et al., 2021), que favoreceram a inclusão da espécie no Livro
77 Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada, inicialmente com o *status* de conservação de
78 Vulnerável (VU) (Brasil, 2018). Posteriormente, por meio da portaria nº 148, de 7 de junho de

79 2022 do Ministério do Meio Ambiente (MMA), o status de conservação de *P. nudiventris* foi
80 revisado e elevado para Em Perigo (EN) (Brasil, 2022).

81 Diante desse cenário, torna-se essencial investigar os parâmetros reprodutivos da
82 espécie, haja vista que se destaca como uma alternativa promissora para o desenvolvimento de
83 técnicas e protocolos de reprodução em ambiente controlado (Barros et al., 2025), o que
84 viabiliza ações voltadas para conservação *ex situ* da espécie. A caracterização espermática
85 desempenha um papel fundamental no desenvolvimento de técnicas de fertilização *in vitro*,
86 além de contribuir para o manejo e a conservação da espécie (Magnotti et al., 2023).

87 Estudos que visam avaliação de parâmetros seminais de peixes auxiliam no
88 entendimento sobre as estratégias reprodutivas da espécies e sua relação com o ambiente
89 inserido (Vazzoler, 1996; Andrade et al., 2015), visto que as alterações na qualidade
90 espermática estão diretamente influenciadas pelas modificações físico-químicas do ambiente
91 (Valdebenito et al., 2015), resultando em impactos na fertilização, motilidade de
92 espermatozoides e/ou anomalias, assim afetando a reprodução da espécie (Abascal et al., 2007).

93 A avaliação de características espermáticas, como volume seminal, concentração
94 espermática e motilidade é essencial para compreender a capacidade reprodutiva da espécie
95 (Maria et al., 2010), permitindo uma análise detalhada de suas estratégias e táticas reprodutivas,
96 sendo indispensáveis para a compreensão de suas estratégias reprodutivas (Magnotti et al.,
97 2018), abrindo conhecimentos científicos sobre a relação entre a fertilização com o seu habitat
98 natural.

99 Apesar da relevância ecológica de *P. nudiventris*, ainda não há estudos que explorem
100 sua estratégia reprodutiva, principalmente quando se trata das características espermáticas. As
101 perturbações ambientais antrópicas podem interferir significativamente em seu habitat natural,
102 consequentemente, comprometendo os estoques naturais de peixes ao influenciar diretamente

103 na estratégia reprodutivas das espécies (Kholodnyy et al., 2019), visto que em suma maioria,
104 espécies de água doce realizam fertilização externa, tendo seus parâmetros espermáticos
105 ativados e regulados diretamente na água (Mishu et al., 2020).

106 Diante do exposto, o presente artigo objetiva avaliar as características espermáticas *in*
107 *natura* de *Parancistrus nudiventris* selvagens, com foco na descrição de seus parâmetros de
108 motilidade, parâmetros cinéticos, morfológica e morfometria, visando amplificar os
109 conhecimentos acerca de sua estratégia e tática reprodutiva e subsidiar estratégias de manejo e
110 conservação da espécie.

111

112 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

113 **2.1 Autorizações e ética em âmbito laboratorial**

114 As coletas e manejo dos animais, bem como a extração de sêmen, foram realizadas em
115 conformidade com a Lei Brasileira de Cuidados e Uso de Animais de Laboratório (Lei
116 11.794/2008), que assegura a ética, respeito, bem-estar e proteção dos animais em
117 experimentos de pesquisa científica.

118 Todos os procedimentos foram realizados com autorização do Instituto Chico Mendes
119 de Conservação da Biodiversidade – ICMBio (SISBIO, sob licença n°: 31059-1) e aprovação
120 da Comissão de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA, sob
121 licença n°: 3032120919). A extrusão do sêmen e as análises de caracterização espermática
122 foram conduzidas no Laboratório de Aquicultura de Peixes Ornamentais do Xingu
123 (LAQUAX), na Universidade Federal do Pará, localizado no município de Altamira, durante o
124 período de setembro de 2023 a junho de 2024.

125 Os animais foram capturados em seu habitat natural, próximo à praia Massanori,
126 localizado no município de Altamira, capturados por meio de mergulho e transportados

127 cuidadosamente para o laboratório utilizando caixa de transporte contendo água proveniente
128 do local de coleta, com aeração e controle de temperatura, conduzidos durante 3 horas. Ao
129 chegarem ao laboratório, no mesmo dia de captura, os animais foram acondicionados em
130 recipientes com oxigenação e controle de temperatura e, em seguida, direcionados à sala de
131 análise para a realização dos procedimentos de extrusão seminal. A sexagem foi realizada
132 considerando características sexuais secundárias, observando os odontódeos hipertrofiados
133 presentes no acúleo peitoral e a morfologia da papila urogenital (Barros et al., 2023).

134 Após a coleta de sêmen, os espécimes foram alocados em aquários de 500 L, mantidos
135 em um sistema fechado com oxigenação, filtragem e aquecimentos contínuos por termostatos.
136 Nenhum exemplar morreu após a coleta. A qualidade da água foi periodicamente verificada e
137 constantemente ajustada para refletir os parâmetros de seu habitat natural, com temperatura
138 mantida até 30°C, pH variando entre 6,8 e 7,0 e condutividade elétrica controlada abaixo de 40
139 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-3}$ (Barros et al., 2024).

140 **2.2 Coleta do sêmen**

141 A coleta de sêmen ocorreu no mesmo dia de coleta dos espécimes, sem uso de indução
142 hormonal, assim como realizado no controle negativo do experimento de Caldas et al., (2021).
143 Foram utilizados 22 espécimes machos de *Parancistrus nudiventris* selvagens (comprimento
144 padrão $17,62\text{ cm} \pm 5,88\text{ cm}$ e peso $139,82\text{ g} \pm 5,10\text{ g}$) anestesiados em de eugenol ($30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
145 previamente testado e adaptado de Caldas et al. (2021). Depois de anestesiados, os animais
146 tiveram sua papila urogenital seca com papel toalha, e cada espécime foi submetido a uma
147 massagem na região abdominal em sentido cefalocaudal (Bombardelli et al., 2006; Witeck et
148 al., 2011).

149 O material seminal foi coletado usando uma micropipeta calibrada em 5 μL . Para cada
150 extração, foi utilizada uma nova ponteira tipo Gilson de 0,1 a 10 μL , descartando a primeira

151 para evitar contaminação das amostras por fezes ou urinas (Poupard et al., 1998; Bombardelli
152 et al., 2006; Sanches et al., 2011).

153 Após a coleta do sêmen, foram realizadas biometrias dos animais anotando-se peso total
154 e comprimento padrão.

155 **2.3 Caracterização espermática**

156 Os animais foram extrusados individualmente, a cada extração de sêmen a primeira
157 ponteira foi descartada para evitar contaminação por fezes e urina. A segunda alíquota teve seu
158 material diluído e inativado em 20 μL de soro fisiológico (0,9% NaCl). Após a extração
159 completa, 1 μL da sêmen diluído foi colocado sob uma lâmina para microscópio previamente
160 coberta com Albumina de Soro Bovino a 0.1% (Lazaro et al., 2021), e ativadas com 5 μL de
161 água destilada (adaptado de Caldas; Godoy, 2019), uma vez que espermatozoides de peixes
162 teleósteos têm sua motilidade ativada somente ao entrar em contato com a água (Carneiro,
163 2007).

164 Imediatamente após a ativação, foi iniciada a captura de vídeo usando uma câmera
165 acoplada ao microscópio de luz em objetiva de 10x (ampliação de 100x) (Nikon Eclipse Si,
166 Tóquio, Japão). As imagens capturadas foram usadas para análise objetiva dos parâmetros
167 cinéticos através do Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) (Da Costa et al., 2022). As
168 demais ponteiras foram fixadas em solução de formaldeído tamponado a 4% com diluição de
169 6g de NaHCO_3 para avaliação da concentração espermática, morfologia, integridade de
170 membrana e morfometria dos espermatozoides.

171 Para avaliação da concentração espermática, o material foi fixado em 1000 μL (1:1000
172 sêmen: formaldeído 4%) (Caldas et al., 2021), enquanto para avaliação da integridade de
173 membrana, morfologia e morfometria, foram fixadas em 500 μL (1:500 sêmen: formaldeído
174 4%), ambos as diluições contendo 6g de NaHCO_3 (adaptado de Da Costa et al., 2022).

175 O volume seminal total foi estimado através da soma das calibrações das pipetas,
176 enquanto o volume relativo foi calculado pela divisão do volume total de sêmen extrusado
177 (μL), dividido pelo peso do espécime (g) ($\text{volume total } (\mu\text{l}) / \text{peso espécime (g)} = \text{Volume relativo}$
178 (μl)). O tempo de motilidade foi determinado pela média da soma das durações de movimentos
179 em frente ao campo óptico até a cessação completa da movimentação espermática (Fernandes
180 et al., 2020; Caldas et al., 2021).

181 **2.3.1 Avaliação dos parâmetros cinéticos**

182 Para caracterizar os parâmetros cinéticos, os vídeos capturados no momento da ativação
183 dos movimentos espermáticos foram editados usando o software VirtualDub 1.9.0
184 (Virtualdub.org) e analisados através do modelo de extensão computacional Assisted Sperm
185 Analysis (CASA), utilizando o software gratuito ImageJ (imagej.nih.gov/ij) (Wilson-Leedy;
186 Ingermann, 2007).

187 Todos as amostras foram analisadas 10 segundos após ativação, sendo avaliadas em
188 intervalos regulares de 30 segundos. Os parâmetros analisados foram: percentual de motilidade
189 (MOT, %), velocidade curvilínea (VCL, $\mu\text{m s}^{-1}$), velocidade média da trajetória (VAP, $\mu\text{m s}^{-1}$),
190 velocidade em linha reta (VSL, $\mu\text{m s}^{-1}$), oscilação (WOB, %), linearidade (LIN, %),
191 motilidade progressiva dos espermatozoides (PROG, μm) e frequência cruzada de batimentos
192 flagelares (BCF, Hz) (Da Costa et al., 2024), sendo considerados espermatozoides móveis os
193 valores dos parâmetros VCL, VAP e VSL que eram acima de 55, 20 e 15 $\mu\text{m s}^{-1}$,
194 respectivamente (Da Costa et al., 2022).

195 **2.3.2 Concentração espermática**

196 Para mensuração da concentração espermática, foram pipetados sob a câmara de
197 Neubauer espelhada $0,0025 \text{ mm}^2$ 1 μL de sêmen diluído em 1000 μL de formaldeído (Witeck
198 et al., 2011; Fernandes et al., 2020; Caldas et al., 2021).

199 Após 10 minutos para estabilização das células, os espermatozoides foram visualizados
 200 e contabilizados em três repetições (Sanches et al., 2011), por meio da contagem de cinco
 201 quadrantes da câmara Neubauer, com o auxílio de um microscópio de luz em objetiva 40x
 202 (ampliação 400x), conectado a um televisor e um contador de células manual (Da Costa et al.,
 203 2022; Da Costa et al., 2024).

204 A concentração foi estimada por meio da fórmula:

$$205 \quad SPZ \left(\frac{SPZ}{mL} \right) = \left(\frac{\sum SPZ}{10q.c.} \right) \times \frac{25 \text{ q.t. } \times \text{ dilution } \times 1000}{\text{camera depth (mm)}}$$

206

207 SPZ = Espermatozoides

208 $\sum spz$ = Quantidade total de espermatozoides contados

209 *q.c.* = Quadrados contados

210 *q.t.* = Total de Quadrados

211 Profundidade da câmara = 0,10 (mm)

212 Diluição = Fator de diluição do sêmen pelo fixador (1000)

213 A produção espermática foi calculada pela divisão da concentração espermática dividido pelo
 214 número de espécimes (Concentração (Sptz) / n° espécimes = produção espermática (Sptz)).

215 **2.3.3 Avaliação da morfologia**

216 Para a análise da morfologia espermática, foram preparados esfregaços com 3 µL de
 217 sêmen diluído e 1 µL de corante rosa bengala (3%) (relação 3:1 sêmen: corante) (Caldas;
 218 Godoy, 2019). Após 5 minutos de secagem, a lâmina foi examinada em um microscópio de luz
 219 com objetiva 40x (ampliação 400x).

220 Utilizando um contador manual, foram contabilizados até 100 células espermáticas por
 221 amostras, avaliando os parâmetros morfológicos: cabeça degenerada (CD), peça intermediária

222 degenerada (PID), microcefalia (MICRO), macrocefalia (MACRO), cabeça isolada (CI),
223 flagelo quebrado (FQ) e flagelo enrolado (FE), sendo estes caracteres divididos entre anomalias
224 primárias e secundárias (Caldas et al., 2021).

225 **2.3.4 Avaliação da viabilidade de membrana**

226 Para avaliar a integridade de membrana, foram preparados esfregaços com 2 μ L de
227 sêmen diluído e 2 μ L de corantes Eosina Y (5%) e Nigrosina (10%) em proporção 2:2 (sêmen:
228 corante) adaptado de Blom (1950) (Viveiro et al., 2012; Caldas et al., 2021).

229 A análise foi realizada em um microscópio de luz com objetiva 40x (ampliação de
230 400x), conectada a um televisor e com auxílio de contador manual. Foram quantificados 100
231 espermatozoides (Caldas; Godoy, 2019), considerando íntegros os com menor coloração,
232 enquanto as células com maior coloração foram classificadas como membrana danificada (Da
233 Costa et al., 2022).

234 **2.3.5 Avaliação da morfometria espermática**

235 Para análise morfométrica, foram preparados esfregaços com 3 μ L de sêmen diluído e
236 1 μ L de corante rosa bengala (3%) (3:1 sêmen: corante), fixados em tubos eppendorf a 500 μ L
237 (Caldas; Godoy, 2019). Foram capturadas 8 imagens de espermatozoides normais de cada
238 amostra, analisando por meio do software ImageJ (imagej.nih.gov/ij) para medir as dimensões
239 em micrômetros do diâmetro da cabeça, perímetro da cabeça, comprimento do flagelo e
240 comprimento total do espermatozoide (Da Costa et al., 2022).

241 **2.4 Análises estatísticas**

242 Foram realizadas análises exploratórias dos dados para calcular a média, mediana,
243 máximo, mínimo, desvio padrão, erro padrão e coeficiente de variância de todas as
244 características investigadas. A normalidade dos dados foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk
245 e a homogeneidade de variância pelo teste de Levene. Após verificado aos pressupostos, os

246 parâmetros cinéticos foram analisados pelo teste Análise de Variância Unidirecional
247 (ANOVA) para os dados paramétricos (PROG) e pelo teste de Kruskal-Wallis para os dados
248 não paramétricos (MOT, VCL, VSL, VAP, LIN, WOB e BCF). Para análise minuciosa das
249 variações, foram realizados testes post-hoc. Para as amostras com homoscedasticidade (VCL,
250 VSL, LIN, WOB, PROG e BCF) foi utilizado o teste post-hoc de Dunn ajustado pelo método
251 de Bonferroni, enquanto para os dados com heterocedasticidade (MOT e VAP) foi aplicado o
252 teste post-hoc de Games Howell. Para todas as análises estatísticas, foram considerados um
253 valor de $P < 0,05$ para determinar a significância dos dados.

254 Os parâmetros morfológicos e integridade de membrana foram expressos em frequência
255 de ocorrência (%). A concentração espermática, volume total e relativo, duração da motilidade,
256 produção espermática e dados morfométricos foram analisados por estatística exploratória,
257 expressos em média, máximo, mínimo, erro padrão, coeficiente de variação e desvio padrão.

258 Para todas as análises, foram considerados um valor de $p < 0,05$ para determinar a
259 significância dos dados. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R Studio
260 (2024.09.0+375).

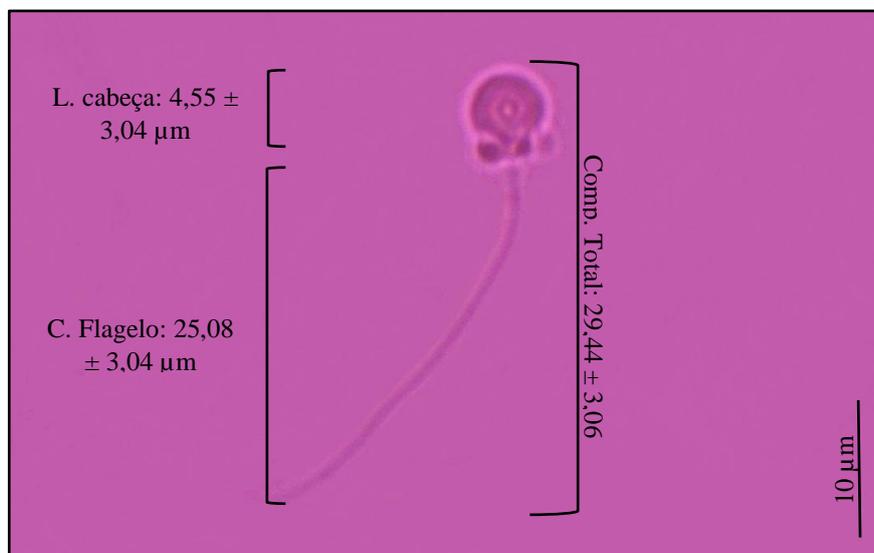
261
262

3. RESULTADOS

263 3.1 Qualidade seminal de *Parancistrus nudiventris*

264 Após ativação espermática, os espermatozoides de *P. nudiventris* apresentaram duração
265 média de $5,29 \pm 2,57$ minutos até a conclusão completa de movimentação espermática. Em
266 média, o volume seminal total recolhido foi $77,38 \pm 56,78$ μL com um volume relativo de $0,57$
267 $\pm 0,35$ μL de sêmen e uma concentração espermática de $1,05 \times 10^{10} \pm 2,25 \times 10^{10}$ sptz mL^{-1}
268 (tabela 1). A produção espermática da espécie foi em média de $5,85 \times 10^8 \pm 1,25 \times 10^9$ sptz mL^{-1}
269 ¹. Os dados morfométricos espermáticos indicaram que em média o comprimento total dos
270 espermatozoides de *P. nudiventris* é de $29,44 \pm 3,06$ μm , com comprimento médio do flagelo

271 de $25,08 \pm 3,04 \mu\text{m}$, diâmetro de cabeça $3,99 \pm 0,38 \mu\text{m}$, perímetro da cabeça $14,57 \pm 1,37 \mu\text{m}$
 272 e largura de $4,55 \pm 3,04 \mu\text{m}$ (Figura 1). Em relação a integridade de membrana $92,56 \pm 4,11 \%$
 273 apresentaram membranas intactas.



274 **Figura 1:** Morfometria com média \pm desvio padrão de espermatozoides normais de *Parancistrus nudiventris*,
 275 onde, as medidas expressas são: ***Comp. Total:** Comprimento total; ***L. cabeça:** Largura da cabeça (μm); ***C.**
 276 **flagelo:** comprimento do flagelo.

277 No sêmen de *Parancistrus nudiventris* houve uma média geral de $60,19 \pm 9,40\%$ de
 278 espermatozoides normais e $39,81 \pm 5,87\%$ com alguma anomalia morfológica. As anomalias
 279 secundárias apresentaram maiores valores com $34,62 \pm 3,50\%$, enquanto apenas $5,17 \pm 0,95\%$
 280 detinham de alguma anomalia primária. Entre as anomalias secundárias, as mais frequentes
 281 foram o flagelo enrolado ($15,12 \pm 6,3\%$), seguido de flagelo quebrado ($11,38 \pm 4,47\%$), sendo
 282 cabeça isolada a menos comum ($8,12 \pm 7,67\%$). Nas anomalias primárias, destacaram-se os
 283 espermatozoides com cabeça degenerada ($2,68 \pm 5,17\%$), seguido de espermatozoides com
 284 Macrocefalia ($1,06 \pm 0,92\%$) e Peça intermediária degenerada ($0,93 \pm 0,99\%$) (tabela 1).

285 As análises quantitativas dos dados biométricos, morfológicos, volumes, concentração,
 286 duração e produção espermática dos espermatozoides de *Parancistrus nudiventris* são
 287 apresentadas na tabela 1.

288

289 **Tabela 1:** Estatística descritiva dos dados biométricos dos espécimes (n = 22) e das características morfológicas
 290 e integridade dos espermatozoides de *Parancistrus nudiventris*.

Variáveis	Méd.*	Máx.*	Mín.*	Median. *	D. P.*	E. P.*	C.V.*
Comp.* Padrão (cm)	17,63	35,24	10,90	15,00	5,88	1,28	33,37
Comp.* Total (cm)	19,61	39,09	13,34	18,42	5,10	1,11	26,02
Peso (g)	139,83	240,00	45,44	129,50	51,16	11,16	36,59
Volume extrusado (µL)	77,38	215,00	25	55	56,78	14,58	165,77
Concentração espermática (SPTZ.mL ⁻¹ ×10 ¹⁰)	1,05	9,85	2,5	3,25	2,25	5,32	214,2
Dur. Motilidade (min)	5,24	13,35	1,54	4,56	2,57	0,56	53,14
Volume relativo (µL)	0,57	1,38	0,14	0,47	0,35	0,08	158,64
Prod. espermática (SPTZ.macho ⁻¹)	5,85 x 10 ⁸	5,47 x 10 ⁹	1,38 x 10 ⁷	1,80 x 10 ⁸	1,25 x 10 ⁹	2,96× 10 ⁸	2,14 x 10 ²
CD* (%)	2,68	20,00	0,00	0,50	5,17	1,29	192,49
CI* (%)	8,12	30,00	2,00	5,50	7,67	1,91	94,47
FQ* (%)	11,38	19,00	0,00	12,00	4,47	1,11	39,29
FE* (%)	15,12	27,00	5,00	15,00	6,03	1,51	39,88
PID* (%)	0,93	3,00	0,00	1,00	0,99	0,24	106,44
MACRO*(%)	1,06	3,00	0,00	1,00	0,92	0,23	87,40
MICRO* (%)	0,50	5,00	0,00	0,00	1,26	0,31	252,98

E. NORMAL* (%)	60,19	72,00	44,00	60,50	9,40	2,35	15,62
Int.* Membrana (%)	92,56	97,00	82,00	94,00	4,11	1,02	4,44

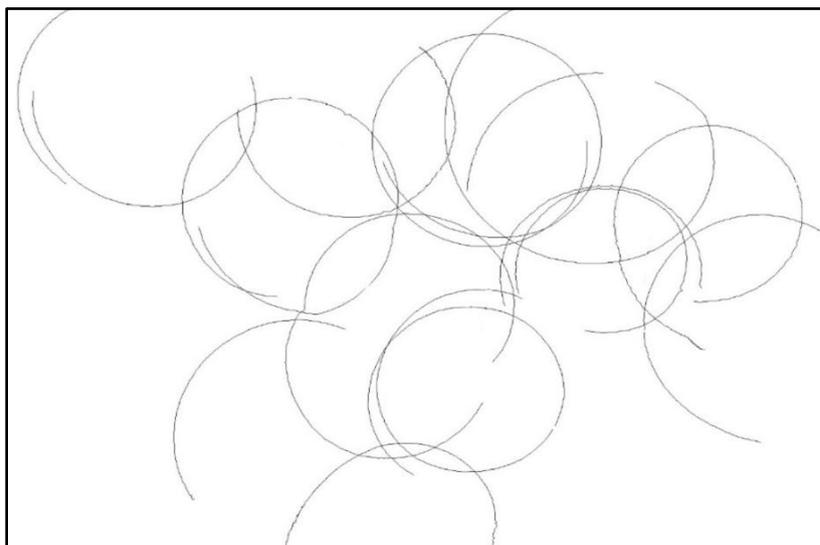
291 *Méd.: Média; Máx.: Máximo; Mín.: Mínimo; Median.: Mediana; D.P: Desvio Padrão; E.P: Erro Padrão; C.V:
 292 Coeficiente de Variância; Comp. Padrão: Comprimento Padrão (cm); Comp. Total: Comprimento Total (cm);
 293 Dur. Motilidade: Duração de motilidade (min); Prod. Espermática: Produção espermática ; CD: Cabeça
 294 degenerada (%); CI: Cabeça isolada (%); FQ: Flagelo quebrado (%); FE: Flagelo enrolado (%); PID: Peça
 295 intermediária degenerada (%); MACRO: Macrocefalia (%); MICRO: Microcefalia (%); E. Normal:
 296 Espermatozoide normal (%); Int. Membrana: Integridade de membrana (%).
 297

298 3.2 Parâmetros de motilidade e cinética espermática de *Parancistrus nudiventris*.

299 As características descritivas dos parâmetros cinéticos e de motilidade dos
 300 espermatozoides de *Parancistrus nudiventris* aos 30 segundos após a ativação estão
 301 apresentadas na Tabela 2.

302 Os espermatozoides de *Parancistrus nudiventris* mostraram possuir movimento
 303 circular, como apresentado pela análise da trajetórias pelo sistema CASA (Figura 2).

304



305 **Figura 2:** Representação visual da trajetória percorrida pelos espermatozoides de *Parancistrus nudiventris* a partir
 306 de análises pelo sistema CASA.
 307

308 O percentual médio de motilidade (MOT) da espécie, determinado em 30 segundos
309 após a ativação, foi de $82,91 \pm 15,70\%$ (tabela 2). Observou uma redução estatisticamente
310 significativa aos 60 segundos ($p < 0,0001$), com uma queda acentuada para $36,03 \pm 31,36\%$ aos
311 150 segundos após a ativação (Figura 3A).

312 A velocidade curvilínea (VCL) inicial em média foi de $182,12 \pm 26,94 \mu\text{m/s}$, e a
313 velocidade média do caminho (VAP) foi de $167,88 \pm 29,72 \mu\text{m/s}$ (tabela 2), ambas
314 apresentando padrões semelhantes e diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,0001$) aos
315 90 segundos após a ativação (Figura 3B; Figura 3C). A velocidade em linha reta (VSL) inicial
316 foi de $133,13 \pm 25,75 \mu\text{m/s}$ (tabela 2), diminuindo significativamente aos 120 segundos após a
317 ativação ($p < 0,0001$) (Figura 3D).

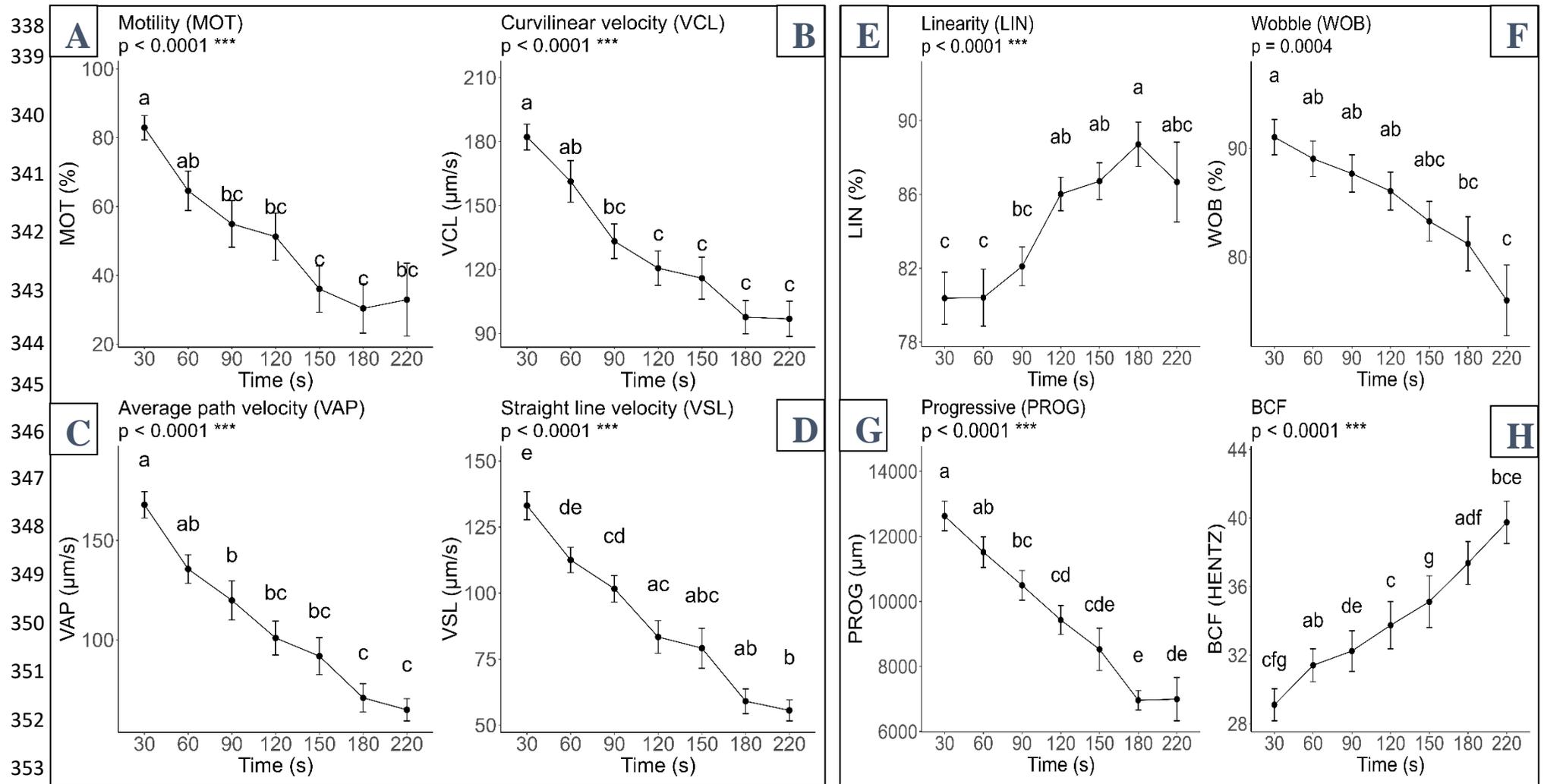
318 A linearidade (LIN) inicial apresentou uma média de $80,38 \pm 6,33\%$ (tabela 2), com
319 variações estatisticamente significativas aos 90 segundos após ativação ($p < 0,0001$). Houve um
320 aumento na capacidade de natação espermática em linha reta de $88,71 \pm 6,05\%$ aos 180
321 segundos após a ativação (Figura 3E). A porcentagem de oscilação (WOB) inicial de
322 *Parancistrus nudiventris* é de $91,02 \pm 7,26\%$ (tabela 2), caindo significativamente após 150
323 segundos ($p = 0,0004$) (Figura 3F).

324 A motilidade progressiva dos espermatozoides (PROG) apresentou uma média inicial
325 de $12624 \pm 2040 \mu\text{m}$ (tabela 2), mostrando variações significativas ao longo do tempo
326 ($p < 0,0001$), principalmente após 150 segundos, quando a progressividade caiu para $8524 \pm$
327 $2764 \mu\text{m}$ percorridos em 30 s (Figura 3G). A frequência inicial de batimento flagelar (BCF) da
328 espécie foi de $29,10 \pm 4,15 \text{ Hz}$ (tabela 2), apresentando diferenças estatísticas significativas
329 ($p < 0,0001$). Essa frequência aumentou 60 segundos após ativação (Figura 3H), atingindo
330 variações com até $39,75 \pm 5,82 \text{ Hz}$ em 220 segundos após ativação, com padrão de batimento
331 se tornando cada vez mais caótico ao período do tempo.

332 **Tabela 2:** Estatística descritiva dos parâmetros cinéticos dos espermatozoides de *Parancistrus nudiventris* em 30s
 333 após ativação.

Variáveis*	Méd.*	Máx.*	Mín.*	Median. *	D. P.*	E. P.*	C.V.*
MOT (%)	82,91	99,52	45,84	85,46	15,70	3,51	18,93
VCL ($\mu\text{m s}^{-1}$)	182,12	224,20	123,70	184,50	26,94	6,02	14,79
VSL ($\mu\text{m s}^{-1}$)	133,13	172,29	87,98	133,03	25,75	5,31	19,34
VAP ($\mu\text{m s}^{-1}$)	167,88	216,40	116,30	170,80	29,72	6,64	17,70
LIN (%)	80,38	93,33	71,22	80,07	6,33	1,41	7,87
WOB (%)	91,02	98,12	73,64	93,76	7,26	1,62	7,97
PROG (μm)	12624	16609	8311	13120	2040	456,30	16,15
BCF (Hz)	29,10	39,91	23,98	28,80	4,15	0,92	14,26

334 ***Méd.:** Média; **Máx.:** Máximo; **Mín.:** Mínimo; **Median.:** Mediana; **D.P:** Desvio Padrão; **E.P:** Erro Padrão; **C.V:**
 335 Coeficiente de Variância; ***Variáveis:** **MOT:** Motilidade (%); **VCL:** Velocidade curvilínea ($\mu\text{m s}^{-1}$); **VSL:**
 336 Velocidade em linha reta ($\mu\text{m s}^{-1}$); **VAP:** Velocidade média do caminho ($\mu\text{m s}^{-1}$); **LIN:** Linearidade (%); **WOB:**
 337 Oscilação (%); **PROG:** Motilidade progressiva dos espermatozoides (μm) e **BCF:** Batimento flagelar (Hz).



354 **Figura 3:** Representação gráfica da motilidade e parâmetros cinéticos (CASA) de *Parancistrus nudiventris* durante 220 segundos de avaliação. As letras correspondem
 355 ao parâmetro analisado, sendo: **A:** motilidade; **B:** Velocidade curvilínea (VCL $\mu\text{m/s}$); **C:** Velocidade média do caminho (VAP $\mu\text{m/s}$); **D:** Velocidade em linha reta (VSL
 356 $\mu\text{m/s}$); **E:** Linearidade (LIN %); **F:** Oscilação (WOB %); **G:** Motilidade progressiva (PROG μm); **H:** Frequência de batimento flagelar (BCF Hz)

358 4. DISCUSSÃO

359 Análises de morfologia e qualidade espermática em teleósteos são essenciais para
360 compreender aspectos reprodutivos e fisiológicos da espécie, sendo fundamental para a
361 biologia da conservação e o manejo de espécies que sofrem impactos ou estão ameaçadas. A
362 caracterização seminal de *Parancistrus nudiventris* revela características importantes de sua
363 estratégia reprodutiva e questões ecológicas.

364 4.1 Qualidade Seminal de *Parancistrus nudiventris* a partir de uma perspectiva ecológica.

365 Após ativação com água destilada, os espermatozoides de *P. nudiventris* apresentaram
366 uma duração média de motilidade de $5,29 \pm 2,57$ minutos até a cessação completa da
367 movimentação. Em condições naturais, os espermatozoides de peixes que realizam fertilização
368 externa permanecem imóveis até serem liberados no ambiente aquoso (Rurangwa et al., 2004)
369 tornando-se metabolicamente ativos por meio de choque hiper osmótico (Cosson, 2004),
370 permanecendo imóveis por um período de tempo (Melo-Maciél et al., 2015).

371 A duração de motilidade espermática varia bastante entre as espécies, sendo bastante
372 curtas na maioria das espécies. Dentre alguns exemplos, o Pimelodidae *Pseudoplatystoma*
373 *reticulatum* com uma motilidade média de 89,25 segundos (Sanchez et al., 2024), o
374 Serrasalminidae *Piaractus mesopotamicus* cuja motilidade é de 52,4 segundos (Streit Jr et al.,
375 2006), o Prochilodontidae *Prochilodus lacustris* com 55,8 segundos de motilidade (Fernandes
376 et al., 2020) e o Bryconidae *Brycon amazonicus* que apresenta uma duração média de 56,6
377 segundos de movimentação espermática (Pereira et al., 2020).

378 Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que peixes da família Loricariidae
379 apresentam duração da motilidade bem maiores. Por exemplo, entre os Hypostominae, Caldas
380 et al., 2021 demonstraram que a duração média da motilidade de *Hypancistrus zebra* é de 8,49
381 minutos, semelhante aos resultados encontrados para *P. nudiventris*, assim como a de

382 *Baryancistrus xanthellus*, com 7,08 minutos Barros et al., (2025), e de *Hypancistrus seideli*
383 com duração de 5,72 minutos Barros (2021).

384 Quando comparado a duração da motilidade de *P. nudiventris* com *Rhinelepis áspera*
385 um Rhinelepineae, observasse uma diferença expressiva. Sanches et al., (2011) observaram que
386 o tempo médio de motilidade espermática de *R. aspera* foi de 42,31 segundos, quando avaliada
387 até a perda de 50% da motilidade. Essa duração contrasta com o tempo de motilidade de *P.*
388 *nudiventris*, que é aproximadamente 5 minutos à mais. Apesar disso, essa diferença pode não
389 estar associada somente à distância filogenética entre as espécies, mas também ao tipo de
390 estratégia reprodutiva desenvolvida pelas duas espécies.

391 De acordo com Morita et al., (2014), o tipo de ambiente influencia diretamente a
392 duração da motilidade espermática em peixes. Segundo estes autores, a longevidade
393 espermática tende a ser maior em espécies que constroem tocas para desova, em comparação
394 aquelas que não apresentam este comportamento (Morita et al., 2014). Nesse contexto,
395 *Rhinelepis áspera* é uma espécie que desova na coluna d'água, ou seja, não desovam em tocas,
396 enquanto *Parancistrus nudiventris* realiza suas desovas em fendas ou tocas e fertiliza os ovos
397 nesses locais, conseqüentemente, realizando a fertilização. Estas diferenças no local de desova
398 podem estar relacionadas às distintas durações de motilidade espermática observadas entre
399 essas espécies.

400 Além disso, Morita et al., (2014) descreve que, o comportamento de construção de
401 ninhos pode indicar uma relação positiva com a longevidade dos espermatozoides. Associado
402 a isso, em ambientes naturais, a espécie geralmente é encontrado de forma isolada ou em casal
403 sob abrigos estreitos formados por pedras, assim como também é encontrada compartilhando
404 abrigos com outras espécies de Loricariidae, como *Baryancistrus spp.*, *Ancistrus ranunculos*,
405 *Peckoltia vittata* e outros (Py-Daniel; Jansen Zuanon, 2005).

406 Considerando este comportamento de utilização de abrigos, principalmente para
407 reprodução, observado em várias espécies da família Loricariidae, como o *Baryancistrus*
408 *xanthellus*, a liberação de espermatozoides ocorre dentro dos abrigos, indicando que uma maior
409 duração de motilidade constitui uma estratégia adaptativa vantajosa para reprodução da espécie
410 (Barros et al., 2025), garantindo com que o espermatozoide alcance os oócitos com sucesso e
411 realizem a fertilização, já que espécies que constroem abrigos produzem espermatozoides com
412 maior longevidade espermática (Morita et al., 2014).

413 Outra característica fundamental na fertilização é o volume e a concentração
414 espermática. O volume e a concentração do sêmen são parâmetros essenciais para a
415 compreensão das estratégias reprodutivas dos teleósteos, desempenhando um papel crucial na
416 fertilização dos oócitos e, conseqüentemente, influenciando no sucesso reprodutivo em
417 diferentes ambientes (Dougherty et al., 2022; Barros et al., 2025). Fitzpatrick (2020) reforça
418 que, há um amplo indicativo de que a quantidade de espermatozoides é uma peça-chave para
419 o sucesso da fertilização, sendo fortemente aumentada com o nível de competição espermática
420 em peixes que realizam fertilização externa.

421 Segundo Kowalki e Cejko (2019), o desempenho reprodutivo de machos de peixes de
422 água doce está intimamente ligado tanto ao volume quanto à quantidade de espermatozoides
423 produzidos, assim, tanto o volume total de sêmen quanto a concentração espermática
424 apresentam variações entre espécies diferentes, bem como entre indivíduos da mesma espécie.

425 Reforçando isso, Barros et al. (2025) defende que as espécies da família Loricariidae,
426 que tem estratégia reprodutiva que diferem de equilíbrio à oportunistas, possuem volumes e
427 concentrações espermáticas menores em comparação as espécies com estratégias reprodutivas
428 periódicas, no entanto, estas características reprodutivas tendem a serem mais semelhantes
429 entre as espécies que compartilham a mesma estratégia de reprodução.

430 Associado a isso, *Parancistrus nudiventris* apresentou um volume ejaculado em média
431 de 77,38 μL , conferindo um volume relativo de 0,57 μL sem uso de indução hormonal,
432 resultados similares para outras espécies da família Loricariidae que compartilham
433 similaridades de estratégias reprodutivas que diferem entre equilíbrio e oportunistas.
434 Resultados comparáveis foram encontrados por Caldas et al., (2021) quando avaliado o volume
435 e concentração espermática no tratamento controle de *Hypancistrus zebra*, apresentando um
436 volume ejaculado de 31,68 μL , com concentração espermática em média de 0.53×10^6 SPTZ
437 mL^{-1} .

438 Outras espécies com resultados relativamente similares é *Hypancistrus seideli* que tem
439 um volume ejaculado em média de 25,17 μL , conferindo um volume relativo de 0,85 μL e
440 concentração espermática de $13,06 \times 10^6$ SPTZ. mL^{-1} sem uso de indução hormonal (Barros
441 2021); *Baryancistrus xanthellus* com um volume total em média de 75,00 μL , apresentando
442 um volume relativo de 0,25 μL e concentração espermática de $1,34 \times 10^7$ Sptz. mL^{-1} (Barros et
443 al., 2025), um resultado semelhante para *P. nudiventris*.

444 Quando avaliados espécies de outras classificações taxonômicas observa-se diferenças
445 significativas no volume e concentração espermática. Em um estudo realizado por Melo-
446 Maciel et al., (2015) observou que o serrasalmidae *Colossoma macropomum* obteve uma média
447 de volume ejaculado de 3,14 mL (3.140 μL) e concentração de $5,72 \times 10^9$ SPTz. mL^{-1} , um
448 resultado 77,9 vezes maior do que para *Parancistrus nudiventris*.

449 Já em estudos realizados por Igna et al., (2022) observou-se que, o *Acipenser*
450 *gueldenstaedtii*, pertencente à família Acipenseridae, teve um volume ejaculado em média de
451 57,1mL (57,100 μL) e concentração espermática de $3953,8 \times 10^6$ sptz. mL^{-1} . Já para o
452 Cyprinidae *Cyprinus carpio* o maior volume de sêmen extrusado foi em média de 11,19 mL
453 (11,190 μL) na segunda recolha durante período reprodutivo da espécie, conferindo uma menor

454 concentração de $18 - 21 \times 10^9$ spz. mL⁻¹ (Cejko et al., 2017), enquanto para o Atherinopsidae
455 *Chirostoma estor* obteve um volume de esperma ejaculada em média de 23,4 µL, com
456 concentração espermática de $29,2 \times 10^9$ spz. mL⁻¹ (Motta et al., 2021). Essas diferenças
457 evidenciam tanto variações interespecíficas quanto intraespecíficas, reforçando que o volume
458 e a concentração podem diferir amplamente entre as espécies (Kowalki e Cejko, 2019).

459 Segundo estudos realizados por Lião et al., (2018), espécies de peixes que fazem desova
460 em águas turbulentas geralmente liberaram uma quantidade maior de espermatozoides em
461 relação ao seu tamanho corporal, quando comparadas às espécies que realizam desova em
462 águas paradas.

463 Uma evidência desse fato são as diferenças nos valores de volume e concentração
464 observado na espécie *Rhinelepis áspera* quando comparado com *P. nudiventris*. Essa espécie
465 (*Rhinelepis áspera*) apresenta comportamento de desova e reprodução em ambientes lóticos
466 (Suzuki et al., 2000).

467 Em um estudo realizado por Sanches et al., (2011) foi registrado um volume de esperma
468 extrusado de 9,91mL (9,910µL), com um volume relativo médio de 8,62mL (8,620µL), esses
469 valores são significativamente maiores quando comparados para os resultados de *Parancistrus*
470 *nudiventris*. Por outro lado, *Parancistrus nudiventris* é uma espécie reofílico que em fase
471 juvenil tem um possível comportamento de migração para águas mais calmas (Fitzgerald et al.,
472 2018), dessa forma, o seu volume seminal e concentração espermática pode estar
473 correlacionado em decorrência de suas características de distribuição em ambientes de água
474 mais calma em período reprodutivo.

475 Essa premissa também é corroborada por Gallego e Asturiano (2018), que afirmam que
476 peixes que desovam em águas turbulentas liberam espermatozoides com maior concentração
477 espermática, porém, com duração de motilidade significativamente menor. Esse padrão é

478 evidente na comparação entre *P. nudiventris*, que apresentou uma duração de motilidade de
479 5,24 segundos, e *R. áspera*, cuja motilidade foi registrada em 42,21 segundos, compensada por
480 um maior valor de volume e concentração espermática.

481

482 **4.2 Morfometria espermática, integridade de membrana e morfologia dos** 483 **espermatozoides de *Parancistrus nudiventris***

484 Conforme descrito por Cosson (2019), o comprimento do flagelo em teleósteos varia
485 de 20 a 100 μm . A análise descritiva dos dados biométricos de *P. nudiventris*, cujo flagelo
486 apresenta 25,08 μm , indica que o comprimento flagelar dessa espécie é relativamente reduzido
487 em comparação à variação descrita para teleósteos. Contudo, valores similares são observados
488 ao considerar exclusivamente representantes da família Loricariidae.

489 Por exemplo, *Baryancistrus xanthellus* apresenta espermatozoides com comprimento
490 total em média de 31,22 μm , comprimento flagelar de 27,32 μm e cabeça de 3,89 μm (Barros
491 et al., 2025). Outra espécie com espermatozoides relativamente semelhantes foram
492 *Hypancistrus seideli*, com espermatozoides de 29,88 μm , flagelo de 24,86 μm e cabeça em
493 média de 4,60 μm (Barros, 2021), enquanto para *Hypancistrus zebra* o comprimento total dos
494 espermatozoides desta espécie é de 35 μm (Caldas et al., 2021). Poucos estudos foram
495 realizados referente à morfometria espermática de espécies da família Loricariidae, limitando
496 assim comparação entre indivíduos dessa família.

497 O comprimento espermático tem relação intrínseca com a velocidade espermática
498 (Simpson et al., 2013), sendo um fator chave para entendimento de sua biologia reprodutiva.
499 Em um estudo realizado por Lião et al., (2018), foi observado uma relação positiva entre as
500 proporções de comprimento flagelar e a velocidade espermática em diferentes peixes. Em um
501 outro estudo realizado por Simpson et al., (2013), foi observado que, ao correlacionar as

502 características de comprimento espermático e a velocidade de natação do peixe-arco-íris
503 (*Melanotaenia australis*), os espermatozoides que possuíam flagelos mais curtos e cabeça
504 menores apresentaram maior capacidade de natação, sendo mais rápidos.

505 Um estudo realizado por Da Costa et al., (2024), que caracterizou espermatozoides de
506 três bagres sul-americanos pertencentes a família Pimelodidae, no parâmetro morfometria
507 foram observados que, para a espécie *Hemisorubim platyrhynchos* os espermatozoides
508 apresentaram comprimento total em média de 93,2 μm , com cabeça de 6,7 μm e um
509 comprimento flagelar de 84,1 μm . Na espécie *Phractocephalus hemioliopus*, as proporções
510 indicaram comprimento total em média de 91,4 μm , diâmetro da cabeça de 6,3 μm e flagelo de
511 82,8 μm , enquanto para *Zungaro zungaro* apresentou um comprimento total de 79,4 μm , com
512 diâmetro da cabeça de 6,4 μm e um comprimento flagelar de 71,4 μm (Da Costa et al., 2024).

513 Nesse contexto, ao comparar as proporções espermáticas de *Parancistrus nudiventris*
514 com outras espécies da ordem Siluriformes, observa-se que as estruturas espermáticas de *P.*
515 *nudiventris* são relativamente menores, porém significativamente mais rápidos, isso é
516 evidenciado pelos parâmetros cinéticos de velocidade apresentadas por Da Costa et al., (2024),
517 que indicam valores inferiores a 60 $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ para as espécies analisadas no estudo.

518 Em relação à integridade da membrana, 92,56% dos espermatozoides da espécie
519 apresentavam membrana intacta. Esses resultados indicam uma alta taxa de células com
520 membranas preservadas, o que é favorável para a reprodução, indicando uma boa qualidade
521 seminal. Segundo Cabrita et al., 2014, a viabilidade dos espermatozoides e sua capacidade de
522 fertilizar ovócitos tem uma dependência direta da morfologia e integridade do DNA.

523 Resultados semelhantes já foram evidenciados em espécie da família Loricariidae,
524 como *Hypancistrus zebra* com 98,57% de células intactas em experimentos sem uso de indução
525 hormonal (Caldas et al., 2021), a espécie *Rinelepis aspera* com 96,50% de células integras

526 (Sanches et al., 2011) e o *Baryancistrus xanthellus* com 89,14% de integridade de membranas
527 (Barros et al., 2025), sendo este o menor valor encontrado em estudos de caracterização seminal
528 de Loricariidae, porém, relativamente semelhante com os resultados de *Parancistrus*
529 *nudiventris*.

530 Do ponto de vista fisiológico, a integridade da membrana espermática, principalmente
531 ao redor da cabeça, é uma característica essencial para avaliação espermática. Quando os
532 espermatozoides entram em contato com a água, inicia-se sua movimentação em virtude das
533 diferenças de gradientes osmótico, conforme descrito por Alivi; Cosson (2006), evidenciando
534 a importância dessa estrutura para a funcionalidade espermática. A principal via para equilíbrio
535 da concentração iônica interna é através de canais de membranas (osmorreguladores) presentes
536 na membrana espermática, no qual possibilitam o fluxo de íons, preparando a fisiologia
537 espermática para movimentação (Kholodnyy et al., 2019). Observa-se que, quando a membrana
538 espermática está danificada, o fluxo de íons é comprometido, o que pode afetar diretamente a
539 fisiologia espermática, prejudicando a motilidade dos espermatozoides e, conseqüentemente,
540 inviabilizando o processo de fertilização (Bode e Labbé, 2010).

541 Associado à integridade de membrana, a morfologia espermática é outra característica
542 fundamental. Segundo Da Costa et al., (2022), espermatozoides que possuem anormalidades
543 morfológicas podem não ter capacidade de realizarem a fertilização, uma vez que não
544 alcançaram os oócitos porque a motilidade é reduzida.

545 O sêmen de *Parancistrus nudiventris* apresentou uma média de 39,81% de
546 espermatozoides com algum tipo anomalia morfológica. As anomalias mais frequentes foram
547 as secundárias, com o flagelo enrolado a mais ocorrente entre elas. Das anomalias primária,
548 espermatozoides com cabeça degenerada foram mais frequentes nas análises. De acordo com
549 Benato et al., 2024, um elevado aumento de anormalidade espermática para uma espécie

550 influencia diminuindo a velocidade dos espermatozoides, causando também modificações em
551 outros parâmetros cinéticos, afetando assim o sucesso reprodutivo da espécie.

552 Estudos realizados na família Loricariidae, até o presente momento, indicam que apenas
553 a espécie *Baryancistrus xanthellus* apresentou índices de normalidades espermáticas
554 semelhantes ao de *P. nudiventris*. Em *B. xanthellus*, 61,34% dos espermatozoides avaliados
555 eram normais, enquanto 38,66% apresentavam alguma anomalia, sendo a cauda quebrada
556 (19%) a mais ocorrente (Barros et al., 2025). Já em *Parancistrus nudiventris*, a principal
557 anomalia observada foi o flagelo enrolado (15,12%), seguido de flagelo quebrado (11,38%).

558 De acordo com Da Costa et al., (2022), as anormalidades nos flagelos podem causar
559 comprometimentos na progressão espermática e causar alterações na cinética do movimento.
560 Associado a isso, espermatozoides que possuem as estruturas flagelares quebradas, certamente
561 tem menos sucesso na fertilização em decorrência de alterações na oscilação e no padrão de
562 movimento circular não progressivo em direção ao oócito (Kavamoto et al., 1999; Da Costa et
563 al., 2022; Benato et al., 2024). Dentre as anomalias de *P. nudiventris*, as que tinham relação
564 com alterações no flagelo foram mais ocorrentes.

565 Assim como no estudo realizado por Barros et al., (2025) com *Baryancistrus xanthellus*,
566 é necessário conduzir mais pesquisas para determinar se os 39,81% de anomalias observadas
567 em *Parancistrus nudiventris* representam uma condição natural da espécie ou um fenômeno
568 aleatório.

569 Muitos fatores abióticos e bióticos presentes na água podem afetar a morfologia
570 espermática de peixes, uma vez que, estes liberam seus gametas diretamente na água. Mishu et
571 al., (2020) descrevem que aumento na porcentagem de células espermática com morfologias
572 anormais afeta diretamente a taxa de fertilização em teleósteos, pois as anomalias dos
573 espermatozoides reduzem a motilidade e a viabilidade seminal.

574 **4.3 Motilidade espermática e parâmetros cinéticos avaliados por sistema**
575 **computadorizado (CASA).**

576 Associado a duração de motilidade, o parâmetro motilidade espermática é fundamental
577 para compreensão do aspecto reprodutivo da espécie, isso porque, a motilidade tem que ser
578 ativada para o espermatozoide ter a capacidade de alcançar e fertilizar o ovulo (Dzyuba;
579 Cosson, 2014).

580 A motilidade inicial dos espermatozoides de *Parancistrus nudiventris* apresentou uma
581 média de 82,91% durante os 30 segundos iniciais da movimentação espermática, indicando
582 uma boa qualidade seminal, assim como defendido por Kowalski; Cejko (2019), onde
583 descrevem que espermatozoides que apresentam uma boa qualidade seminal exibem
584 motilidade acima de 80%.

585 A diminuição da motilidade espermática após um período de tempo pode ser explicada
586 a partir do aspecto fisiológico do espermatozoide. O início da motilidade de espermatozoides
587 depende de altas concentrações de adenina trifosfato (ATP) (Kowalski 2019), o que
588 inicialmente resulta em uma maior proporção espermatozoides moveis. No entanto, a
589 motilidade dos espermatozoides de peixes tende a diminuir após um certo período,
590 possivelmente como resposta ao desequilíbrio energético. Isso porque, o consumo de energia
591 para sustentação do movimento supera a capacidade de produção de adenina trifosfato (ATP)
592 (Dzyuba et al., 2016).

593 Além disso, estudos semelhantes sugerem que espécies da família Loricariidae
594 compartilham características similares de qualidade espermática, apresentando uma boa
595 qualidade seminal e que são relativamente semelhantes ao de *Parancistrus nudiventris*. Por
596 exemplo, *Baryancistrus xanthellus* apresenta uma motilidade espermática inicial de 82,13%
597 (Barros et al., 2025), *Hypancistrus seideli* com 80% de motilidade espermática na primeira

598 extrusão (Barros, 2021) e *Hypancistus zebra* a motilidade alcança 91,25% em condições de
599 extrusão sem indução hormonal (Caldas et al., 2021). Esses estudos reforçam a similaridade na
600 qualidade seminal entre espécies do mesmo táxon, evidenciando uma boa qualidade seminal
601 para *Parancistrus nudiventris*.

602 Em relação à progressividade e linearidade, observou-se que, à medida que os
603 espermatozoides de *Parancistrus nudiventris* perdiam os traços de motilidade progressiva, a
604 linearidade aumentava em função do tempo (segundos).

605 Segundo Kholodnyy et al., 2019, enquanto os espermatozoides permanecem móveis,
606 seus flagelos têm a capacidade de alterar o padrão de movimentação, passando por diferentes
607 estágios, onde um destes inclui a perda da amplitude flagelar, além da mudança de um
608 movimento helicoidal para planar, podendo alterar a direção do deslocamento dos
609 espermatozoides. O que corresponde ao visualizado na trajetória dos espermatozoides de
610 *Parancistrus nudiventris*, em que após determinado período, houve perda gradual da
611 motilidade progressiva, com aumento evidente da linearidade ao longo do tempo.

612 Conforme os resultados de *Parancistrus nudiventris*, todas as características cinéticas
613 apresentaram mudanças após 60 segundos de ativação, incluindo o percentual de motilidade.
614 Estudos de avaliação espermática descrevem que o parâmetro motilidade espermática (Gage et
615 al., 2004) e os parâmetros de velocidades (Rurangwa et al., 2003) são os mais relevantes para
616 descrição da qualidade de espermatozoides de teleósteos. Além disso, segundo Skjaeraasen et
617 al., (2009), a velocidade do espermatozoide é o principal contribuinte que determina o sucesso
618 da fertilização em peixes.

619 Além da motilidade, outros atributos como velocidade, motilidade progressiva, retidão
620 do caminho e oscilação também são parâmetros que são correlacionados com a fertilização
621 (Gallego et al., 2013; Benato et al., 2024).

622 Os parâmetros de velocidade dos espermatozoides demonstram uma relação direta com
623 a capacidade de fertilização do oócito. Isso porque, de acordo com Rudolfson et al. (2008), uma
624 maior proporção de espermatozoides progressivos, ocasionalmente, deixa os espermatozoides
625 de desempenho médio em desvantagens durante a competição espermática para fertilização.
626 De maneira semelhante, Skjaeraasen et al., (2009) reforçam que os espermatozoides mais
627 rápidos possuem uma vantagem significativa, superando os demais na corrida até o oócito.

628 O parâmetro WOB (oscilação) indica a eficiência de movimento das células
629 espermática em sentido para frente, onde, os valores mais baixos representam maiores
630 oscilações em suas trajetórias (Neuman et al., 2017)

631 Além disso, são escassos os estudos que avaliam os parâmetros cinéticos dos
632 espermatozoides em espécies da família Loricariidae. Entre aos poucos disponíveis, destaca-se
633 o trabalho com *Baryancistrus xanthellus*, cujos resultados mostraram semelhança ao observado
634 neste estudo. Os valores reportados para os parâmetros VCL, VAP e VSL foram de 196,27
635 $\mu\text{m/s}$, 165,68 $\mu\text{m/s}$ e 122,92 $\mu\text{m/s}$, respectivamente (Barros et al., 2025).

636 Os padrões de movimento flagelar analisados por sistemas computadorizados são
637 resultados de análises de trajetórias da cabeça espermática (Boryshpolets et al., 2018).
638 Segundos esses mesmos autores, tanto a velocidade média da trajetória (VAP) quanto a
639 velocidade em linha reta (VSL) demonstram que os espermatozoides raramente conseguem
640 nadarem em linha reta, pois, a cabeça espermática é guiada pelo movimento do flagelo, que
641 não apenas impulsiona para frente, mas também provoca um movimentando de um lado a outro
642 em virtude de padrões de movimentação flagelar (Boryshpolets et al., 2018), ou seja, são
643 valores arbitrários.

644 Várias características podem ser obtidas quando se avalia as posições do flagelo
645 espermático durante a motilidade do espermatozoide. Estes parâmetros podem ser o

646 comprimento de onda no flagelo, amplitude, velocidade e até mesmo a frequência flagelar
647 (Boryshpolets et al., 2018). Associado a isso, a frequência flagelar nos tempos iniciais de
648 *Parancistrus nudiventris* foram significativa baixas, aumentando após os 60 segundos de
649 ativação tornando-se mais caótico ao longo do período de avaliação.

650 Isso pode ser explicado a partir do comportamento do movimento flagelar em função
651 do tempo, pois a frequência de batimento flagelar decai gradualmente conforme é suprido a
652 carga de energia de ATP, resultando em um menor comprimento de ondas nos flagelos,
653 desaparecendo após um período de movimentação em virtude do gasto de energia, até a parada
654 total da motilidade espermática (Boryshpolets et al., 2018; Dzyuba et al., 2016; Kholodnyy et
655 al., 2019), demonstrando assim trajetórias menos completas e visualmente mais caóticos.

656 A análises de caracterização espermática representa apenas um passo inicial no
657 entendimento da estratégia reprodutiva da espécie. Além disso, é imprescindível que novos
658 estudos sejam realizados para ampliar o conhecimento sobre a qualidade seminal de
659 *Parancistrus nudiventris*, considerando que, além dos fatores ambientais, outros aspectos,
660 como nutrição, bem-estar e manejo, também exercem influência significativa nas
661 características espermáticas.

662

663 **5. CONCLUSÃO**

664 Com base nos resultados apresentados neste estudo, verificou-se que é possível coletar
665 sêmen de *Parancistrus nudiventris* sem aclimatação, sendo este um fator considerável para
666 trabalhos futuros que visam apresentar comparações com espécies aclimatadas.

667 Além disso, foi observado um volume seminal extrusado significativo obtido sem uso
668 de indução hormonal, o que pode ser um importante aspecto para viabilizar estudos voltados à

669 formulação de dose inseminante, protocolos de manejo e reprodução *in vitro* da espécie,
670 favorecendo a conservação *ex situ* desta espécie.

671 No geral, as maiorias dos parâmetros (MOT; VCL; VSL; VAP; WOB; PROG e BCF)
672 mudaram após os 60 segundos de ativação. Quanto à qualidade seminal, o sêmen de *P.*
673 *nudiventris* possui uma boa qualidade seminal, bons índices de normalidades espermáticas,
674 além de apresentar espermatozoides relativamente pequenos em comparação com outros
675 siluriformes, mas similares as espécies da família Loricariidae.

676 Como este é o primeiro estudo dedicado à compreensão dos aspectos reprodutivos dessa
677 espécie, espera-se que os resultados sirvam como base para futuras investigações científicas,
678 contribuindo para um maior entendimento de sua estratégia reprodutiva e para avanços dos
679 conhecimentos ecológicos relacionados à espécie.

680 Com tudo, este estudo poderá contribuir para a conservação da espécie, além de
681 contribuir ativamente com futuros trabalhos de manejo, reprodução, ecologia e processos de
682 biotecnologia.

683

684 6. REFERENCIAS

685 Abascal, F.J., Cosson, J., Fauvel, C., (2007). Characterization of sperm motility in sea bass:
686 the effect of heavy metals and physicochemical variables on sperm motility. J. Fish Biol. 70,
687 509–522. Doi: <https://Doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01322.x>

688 Alavi, S.M.H., Cosson, J, (2006). Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality:
689 A review. Cell Biology International 30 (2006) 1-14. Doi:
690 <https://Doi.org/10.1016/j.cellbi.2005.06.004>

691 Andrade, E.S, Andrade, E.A, Felizardo, V.O, Paula, D.A.J, Veras, G.C, Murgas, L.D.S, (2015).
692 Reproductive biology of freshwater fish. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo
693 Horizonte, v.39, n.1, p.195-201, jan./mar. 2015. Disponível em: www.cbra.org.br

694 Barros, F. J. T., Bahia, I. R.S. L., Nascimento, T. P., Moura, M. C. S., Torres, R. A., Pereira,
695 T.S., Sousa, L. M., (2024). Effect of stocking density on the growth of the endangered

- 696 Amazonian fish *Hypancistrus zebra* (Siluriformes: Loricariidae). Aquatic Conservation:
697 Marine and Freshwater Ecosystems. DOI: <https://doi.org/10.1002/aqc.4256>
- 698 Barros, F.J.T., Rodrigues, E.L.C., Moura, M.C.S., Torres, R.A., De Paula, E.A., Sousa, L.M.
699 (2023). Weight-Length and Length-Length Relationships of the Endangered Zebra Pleco
700 *Hypancistrus zebra* (Siluriformes, Loricariidae) from the Xingu River, Amazon, Brazil. Journal
701 of Applied Ichthyology. DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/5158180>
- 702 Barros, F.J.T., (2021). Análise espermática de *Hypancistrus* sp. (Siluriformes, Loricariidae) do
703 rio Xingu, Pará, Brasil. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em
704 Biodiversidade e Conservação. Disponível em:
705 [https://www.researchgate.net/publication/372538974_Analise_Espermatologica_de_Hypancistrus](https://www.researchgate.net/publication/372538974_Analise_Espermatologica_de_Hypancistrus_sp_SILURIFORMES_LORICARIIDAE_do_rio_Xingu_Para_Brasil?channel=Doi&linkId=64bd6c11c41fb852dd95847a&showFulltext=true)
706 [_sp_SILURIFORMES_LORICARIIDAE_do_rio_Xingu_Para_Brasil?channel=Doi&linkId=](https://www.researchgate.net/publication/372538974_Analise_Espermatologica_de_Hypancistrus_sp_SILURIFORMES_LORICARIIDAE_do_rio_Xingu_Para_Brasil?channel=Doi&linkId=64bd6c11c41fb852dd95847a&showFulltext=true)
707 [64bd6c11c41fb852dd95847a&showFulltext=true](https://www.researchgate.net/publication/372538974_Analise_Espermatologica_de_Hypancistrus_sp_SILURIFORMES_LORICARIIDAE_do_rio_Xingu_Para_Brasil?channel=Doi&linkId=64bd6c11c41fb852dd95847a&showFulltext=true)
- 708 Barros, F.J.T., Yasui, G., Soares, A.X., Paula, E.A., Nascimento, T.P., Silva, M.P., Bandeira,
709 M.M., Rodrigues, E.L.C., Lopes, T.S., Sousa, L.M., (2025). Characterization of semen from
710 *Baryancistrus xanthellus* Rapp Py-Daniel, Zuanon & Ribeiro de Oliveira, 2011 (Siluriformes,
711 Loricariidae), an endemic catfish species from the Xingu River, Pará, Brazil.
- 712 Benato, J. L., Streit Jr, D., Teixeira, N.S., Rodrigues, R. B., Freitas, T. R., Okamoto, M.,
713 Rodrigues, R., Santos, R., Dantas, R. V., Balbinot, A. P. A., Oliveira, R. R. B., Maltez, L. C.,
714 Menossi, O., Sampaio, L. A. (2024). *Pogonias courbina* sperm characteristics in its first
715 reproductive season. PeerJ. 2024 Jul 18;11:e15600. Doi: [10.7717/peerj.15600](https://doi.org/10.7717/peerj.15600)
- 716 Bobe. J., Labbé, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. General and Comparative
717 Endocrinology. Volume 165, Edição 3, Páginas 535-548. Doi:
718 <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.011>
- 719 Bombardelli, R. A., Sanches, E. A., Baggio, D. M., Sykora, R. M., Souza, B. E., Tessaro, L.,
720 Piana, P. A. (2013). Effects of the spermatozoa: oocyte ratio, water volume and water
721 temperature on artificial fertilization and sperm activation of cascudo-preto. R. Bras. Zootec.,
722 v.42, n.1, p.1-6, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982013000100001>
- 723 Boryshpolets S, Kholodnyy V, Cosson J, Dzyuba B., (2018). Fish sperm motility analysis: the
724 central role of the flagellum. Reproduction, Fertility and Development. Doi:
725 <https://doi.org/10.1071/RD17478>
- 726 Brasil, (2018). Plano De Recuperação Para Espécies Ameaçadas De Peixes Capturados Para
727 Fins Ornamentais Nas Bacias Hidrográficas Dos Rios Xingu e Tapajós. Ministério do Meio
728 Ambiente. Instituto de Conservação Chico Mendes. Disponível em: <https://www.gov.br/>
- 729 Brasil, (2022). Ministério do Meio Ambiente. Atualização da Lista Nacional de Espécies
730 Ameaçadas de Extinção. Instituto de Conservação Chico Mendes. Disponível em:
731 [https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_mma_148_2022](https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_mma_148_2022_altera_anexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacadas_extincao.pdf)
732 [_altera_anexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacadas_extincao.pdf](https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_mma_148_2022_altera_anexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacadas_extincao.pdf)
- 733 Cabrita, E., Martínez-Paramo, S., Gavaia, P.J., Riesco, M.F., Valcarce, D.G., Sarasquete, C.,
734 (2014). Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis.
735 Aquaculture 2014; 432:389e401. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.04.034>

- 736 Caldas, J. S., Silva, A. L., Sousa, L. M., Sousa, E. B., Monteiro, I. L. P., Barros, F. J. T., Godoy,
737 L., (2021). Effects of hormonal treatment on induced spermiation and semen quality in the
738 endangered Amazonian fish *Hypancistrus zebra* (Siluriformes, Loricariidae). Aquaculture.
739 DOI: <https://Doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736140>
- 740 Caldas, J.S., Godoy, L., (2019). Sperm characterization of the endangered Amazonian fish
741 *Hypancistrus zebra*: Basic knowledge for reproduction and conservation strategies. Animal
742 Reproduction Science 204 (2019) 117–124. <https://Doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.03.012>
- 743 Carneiro, P.C.F, Azevedo, H.C, Sanches, E.G, Maria, A.N, (2012). Manual de curadores de
744 germoplasma: Conservação *ex situ/ in vitro* de sêmen de peixes. Empresa brasileira de
745 pesquisas agropecuária. Embrapa recursos genéticos e biotecnológicos. ISSN 0102-0110.
746 Brasília, 2012. Disponível em: <https://www.embrapa.br>
- 747 Carneiro, P.C.F., (2007). Technologies for fish semen production and storage. Rev Bras Reprod
748 Anim, Belo Horizonte, v.31, n.3, p.361-366, jul./set. 2007. Disponível em www.cbpa.org.br
- 749 Cejko, B. I., Sarosiek, B., Krejszef, S., Kowalski, R. K., (2017). Multiple collections of
750 common carp *Cyprinus carpio* L. Semen during the reproductive period and its effects on sperm
751 quality. Animal Reproduction Science. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.12.002>
- 752 Cerqueira, V. Sperm characteristics of wild and captive lebranche mullet *Mugil liza*
753 (Valenciennes, 1836), subjected to sperm activation in diferente pH and salinity conditions.
754 Animal Reproduction Science 192 (2018) 164–170. Doi:
755 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.03.004>
- 756 Cosson J., (2004). The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa.
757 Aquacult Int 2004;12:69e85. Doi: [10.1023/B:AQUI.0000017189.44263.bc](https://doi.org/10.1023/B:AQUI.0000017189.44263.bc)
- 758 Cosson, J., (2019). Fish Sperm Physiology: Structure, Factors Regulating Motility, and
759 Motility Evaluation. Biological Research in Aquatic Science. Doi: [10.5772/intechopen.85139](https://doi.org/10.5772/intechopen.85139)
- 760 Da Costa, B. B., Rodrigues, R. B., Povh, J. A., Sanches, E. A., Teixeira, N.S., França, T.S.,
761 Spica, L. N., Machado, T. L. F., Benato, J. L., Stawinski, C. V., Kasai, R. Y. D., Streit Jr., D.
762 P. (2024). Descriptive analysis of the sperm of three South American catfish species-
763 maintained *ex situ* and the influence of morphology on sperm movement. Theriogenology Wild
764 4 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.therwi.2024.100080>
- 765 Da Costa, B.B., Povh, J.A., Sanches, E.A., Spica, L.N., Rodrigues, R.B., Teixeira, N.S., França,
766 T.S., Benato, J. B., et al., (2022). Characterization of sperm quality in *Brycon hilarii*: How does
767 morphology affect sperm movement? *Theriogenology Wild*, 1, 100007.
768 <https://Doi.org/10.1016/j.therwi.2022.100007>
- 769 Dougherty, L. R., Skirrow, M. J. A., Jennions, M. D., Simmons, L. W., (2022). Male alternative
770 reproductive tactics and sperm competition: a meta-analysis. Biol. Rev. (2022), 97, pp. 1365–
771 1388. Doi: 10.1111/brv.12846
- 772 Dzyuba, B., Bondarenko, O., Fedorov, P., Gazo, I., Prokopchuk, G., Cosson, J., (2016).
773 Energetics of fish spermatozoa: The proven and the possible. Aquaculture. Doi:
774 <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.038>

- 775 Dzyuba, V., Cosson, J., (2014). Motility of fish spermatozoa: from external signaling to flagella
776 response. *Reproductive Biology*. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2013.12.005>
- 777 Fernandes, J.F.F., França, C.L., Santana, T.C., Lobato, R.S., Teixeira, E.V., (2020). Technical
778 contribution on identifying anomalies sperm in the semen *in natura* curimatã, *Prochilodus*
779 *lacustris* Steindachner, 1907. *Brazilian Journal of Development*. Curitiba, v. 6, n. 3, p. 10418-
780 10431. Doi: 10.34117/bjdv6n3-064
- 781 Fitzgerald, D.B, Perez, M.H.S, Melo, L.S, Gonçalves, A.L, Rapp Py-Daniel, L, Lujan, N.K.;
782 Zuanon, J, Winemiller, K.O, (2018). Diversidade e estrutura das comunidades de peixes que
783 habitam as corredeiras do Rio Xingu: implicações para a conservação diante do
784 desenvolvimento de uma hidrelétrica de grande escala. Disponível em > [https://site-
785 antigo.socioambiental.org/sites/blog.socioambiental.org/files/nsa/arquivos/diversidade_e_estr
786 utura_das_comunidades_de_peixes_que_habitam_as_corredeiras_do_rio_xingu_implicacoes
787 para_a_conservacao_diante_do_desenvolvimento_de_uma_hidreletrica_de_grande_escala
788 2.pdf](https://site-antigo.socioambiental.org/sites/blog.socioambiental.org/files/nsa/arquivos/diversidade_e_estrutura_das_comunidades_de_peixes_que_habitam_as_corredeiras_do_rio_xingu_implicacoes_para_a_conservacao_diante_do_desenvolvimento_de_uma_hidreletrica_de_grande_escala_2.pdf)
- 789 Fitzpatrick, J.L., (2020). Sperm competition and fertilization mode in fishes. *Phil. Trans. R.*
790 *Soc. B* 375: 20200074. Doi: <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2020.0074>
- 791 Gage, M.J.G, Macfarlane, C.P, Yeates, S., Ward, R.G., Searle J.B., Parker, G.A., (2004).
792 Spermatozoal traits and sperm competition in atlantic salmon: relative sperm velocity is the
793 primary determinant of fertilization success. *Curr Biol* 2004; 14:44e7. Doi:
794 <https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.12.028>
- 795 Gallego V, Pérez L, Asturiano JF, Yoshida M. (2013). Relationship between spermatozoa
796 motility parameters, sperm/egg ratio, and fertilization and hatching rates in pufferfish (*Takifugu*
797 *niphobles*) *Aquaculture* 416-417:238-243. Doi:
798 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.035>
- 799 Gallego, V., Asturiano, J. F., (2018). Fish sperm motility assessment as a tool for aquaculture
800 research: a historical approach. *Reviews in Aquaculture*, 1–28. Doi:
801 <https://doi.org/10.1111/raq.12253>
- 802 Igna, V., Telea, A., Florea, T., Popp, R., & Grozea, A., (2022). Evaluation of Russian sturgeon
803 (*Acipenser gueldenstaedtii*) Semen Quality and Semen Cryopreservation. *Rev. Animals*. 12,
804 2153. Doi: <https://doi.org/10.3390/ani12162153>
- 805 Kavamoto, E.T., Barnabe, V.H., Campos, B.E.S., Andrade-Talmelli, E.F., (1999).
806 Anormalidade morfológica nos espermatozoides do curimatã *Prochilodus scrofa*
807 (Steindachner, 1881) (Osteichthyes, Characiformes, Prochilodontidae). *Boletim do Instituto de*
808 *Pesca*. Disponível em: <https://institutodepesca.org/index.php/bip/article/view/649>
- 809 Kholodnyy, V., Gadêlha, H., Cosson, J., Boryshpolets, S. (2020). How do freshwater fish
810 sperm find the egg? The physicochemical factors guiding the gamete encounters of externally
811 fertilizing freshwater fish. *Reviews in Aquaculture* (2020) 12, 1165–1192. Doi:
812 <https://doi.org/10.1111/raq.12378>
- 813 Kime, Van Look KJW, McAllister BG, Huyskens G, Rurangwa E, Ollevier F., (2001).
814 Computer-assisted sperm analysis (CASA) as a tool for monitoring sperm quality in fish.

- 815 Comparative Biochemistry and Physiology – C Toxicology and Pharmacology 130: 425–433.
816 Doi: [10.1016/s1532-0456\(01\)00270-8](https://doi.org/10.1016/s1532-0456(01)00270-8)
- 817 Kowalski, R.K., Cejko, B.I., (2019). Sperm quality in fish: Determinants and affecting factors.
818 Theriogenology 135, 94–108. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.06.009>
- 819 Lião, W. B., Huang, Y., Zeng, Y., Zhong, M. J., Luo, Y., Lüpold, S. (2018). Ejaculate evolution
820 in external fertilizers: influenced by sperm competition or sperm limitation? Doi:
821 <https://doi.org/10.1111/evo.13372>
- 822 Magnotti, C., Figueroa, E., Farias, J.G., Merino, O., Valdebenito, I., Oliveira, R.P.S,
823 Maria, A.N., Azevedo, H. C., Santos, J.P., Silva, C.A., Carneiro, P.C.F., (2010). Semen
824 characterization and sperm structure of the Amazon tambaqui *Colossoma macropomum*. J.
825 Appl. Ichthyol. 26 (2010), 779–783. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01542.x>
- 826 Melo-Maciel, M.A.P., Nunes, J.F., Pinheiro, J.P.S., Nunes, L.T., Pinheiro, R.R.R., Lopes, J.T.,
827 Salmito-Vanderley, C.S.B., (2015). Sperm motility and velocities of Characiformes fishes in
828 different times post-activation. Short communications. DOI: [10.5433/1679-
829 0359.2015v36n6p4023](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n6p4023)
- 830 Mishu, M. M., Mostakim, G. M., Khatun, M. M., Rahman, M. K., Shahjahan, M., Islam, M.
831 S., (2020). Sperm movement and morphological changes in the silver barb (*Barbonymus*
832 *gonionotus*) exposed to quinalphos. Environmental and Sustainability Indicators. Doi:
833 <https://doi.org/10.1016/j.indic.2020.100083>
- 834 Morita, M., Awata, S., Yorifuji, M., Ota, K., Kohda, M., Ochi, H., (2014). Bower-building
835 behaviour is associated with increased sperm longevity in Tanganyikan cichlids. J. Evol. Biol.
836 27, 2629–2643. Doi: <https://doi.org/10.1111/jeb.12522>
- 837 Motta, N. C., Machado, G. J., Ferreira, I. S., García, J. L., Martínez Chávez, C. C., Martínez-
838 Palacios, C. A., Solis Murgas, L. D., (2021). Sperm characterization and cryopreservation of
839 the endangered freshwater fish *Chirostoma estor* (Atheriniformes). Cryobiology 103 (2021)
840 81–86. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2021.09.004>
- 841 Pereira, A.S., Teixeira, E., Andrade, T. P., Carvalho-Neta, R. N. F., (2020). Short-term
842 preservation of *Brycon amazonicus* sperm from a protected area of Brazil. Research, Society
843 and Development, v. 9, n. 11, e2589119575, 2020. Doi: [http://dx.doi.org/10.33448/rsd-
844 v9i11.9575](http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i11.9575)
- 845 Poupard, G.P., Paxion, C., Cosson, J., et al., (1998). Initiation of carp spermatozoa motility and
846 early ATP reduction after milt contamination by urine. Aquaculture, v.160, p.317-328, 1998.
847 DOI: 10.1016/S0044-8486(97)00301-3
- 848 Rapp Py-Daniel, L. H., Zuanon, J, (2005). Description of a new species of Parancistrus
849 (Siluriformes: Loricariidae) from the rio Xingu, Brazil. Neotropical Ichthyology, v. 3, n. 4, p.
850 571-577, 2005. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252005000400014>
- 851 Rudolfson, G., Figenschou, L., Folstad, I., Kleven, O., (2008). Sperm velocity influences
852 paternity in the Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Aquacult Res 39:212–216

- 853 Rurangwa, E., Kime, D., Ollevier, F., Nash, J., (2004). The measurement of sperm motility and
854 factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture* 2004;234: 1e28.
855 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.12.006>.
- 856 Sanches, E. A., Bombardelli, R. A., Baggio, D. M., Sykora, R. M., Xavier, A. M. M. (2011).
857 Características seminais do cascudo-preto (*Rhinelepis aspera*). *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo
858 Horizonte, v.35, n.3, p.357-362. Disponível em:
859 <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v35n3/pag357-362.pdf>
- 860 Sanchez, P.M., Borges, L. P., Lobato, S. I. R., Carneiro-Leite, L., Kasai, R. Y. D., Ribeiro,
861 C.S., Veríssimo-Silveira, R., Ninhaus-Silveira, A., (2024). Relationship between seminal
862 plasma composition and sperm quality parameters of the catfish *Pseudoplatystoma*
863 *reticulatum*. *Neotropical Ichthyology*. Doi: <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0109>
- 864 Simpson, J. L., Humphries, S., Evans, J. P., Simmons, L. W., Fitzpatrick, J. L., (2013).
865 Relationships between sperm length and speed differ among three internally and three
866 externally fertilizing species. *Evolution* 68-1: 92–104. Doi: [10.1111/evo.12199](https://doi.org/10.1111/evo.12199)
- 867 Skjæraasen, J. E., Mayer, I., Meager, J. J., Rudolfsen, G., Karlsen, O., Haugland, T., Kleven,
868 O. (2009). Sperm characteristics and competitive ability in farmed and wild cod. *Marine*
869 *Ecology Progress Series*. vol. 375: 219–228, 2009. Doi: [10.3354/meps07774](https://doi.org/10.3354/meps07774)
- 870 Sousa, L.M., Lucanusb, O., Arroyo-Morac, J.P., Kalacskab, M., (2021). Conservation and trade
871 of the endangered *Hypancistrus zebra* (Siluriformes, Loricariidae), one of the most trafficked
872 Brazilian fish. *Global Ecology and Conservation* 27 (2021) e01570. Doi:
873 <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2021.e01570>
- 874 Streit Jr., D. P., Ribeiro, R. P., Moraes, G. V., Mendez, L. V., Gallo, J. M., Digmayer, M.,
875 Povh, J. A., (2006). The semen qualitative characteristics and spermatozoa life time of pacu
876 (*Piaractus mesopotamicus*) after hormonal induction. *Bioscience Journal* 22(3). Disponível
877 em:
878 [https://www.researchgate.net/publication/277196261_Characteristicas_qualitativas_do_semen](https://www.researchgate.net/publication/277196261_Characteristicas_qualitativas_do_semen_de_pacu_Piaractus_mesopotamicus_apos_inducao_hormonal)
879 [_de_pacu_Piaractus_mesopotamicus_apos_inducao_hormonal](https://www.researchgate.net/publication/277196261_Characteristicas_qualitativas_do_semen_de_pacu_Piaractus_mesopotamicus_apos_inducao_hormonal)
- 880 Suzuki, H. I., Agostinho, A. A., Wine-Miller, K. O., (2000). Relationship between oocyte
881 morphology and reproductive strategy in loricariid catfishes of the Parana´ River, Brazil.
882 *Journal of Fish Biology* (2000) 57, 791–807. Doi:[https://doi.org/10.1111/j.1095-](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2000.tb00275.x)
883 [8649.2000.tb00275.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2000.tb00275.x)
- 884 Tólofi, R.M., Dias, R.M., Alves, G.H.Z., Hoeninghausd, D.J., Gomes, L.C., Baumgartnerb,
885 M.T., Agostinho, A.A., (2017). Gold at what cost? Another megaproject threatens biodiversity
886 in the Amazon. *Perspectives in Ecology and Conservation* 15 (2017) 129–131. Doi:
887 <http://dx.doi.org/10.1016/j.pecon.2017.06.003>
- 888 Valdebenito, I.I., Gallegos, P.C., Effer, B.R., (2015). Gamete quality in fish: evaluation
889 parameters and determining factors. *Zygote* 23, 177–197. Doi:
890 <https://doi.org/10.1017/S0967199413000506>
- 891 Vari, R.P, Malabarba, L.R, 1998. *Neotropical Ichthyology: An Overview. Phylogeny and*
892 *Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre, Edipucrs, 603 p. Disponível em:
893 <https://www.researchgate.net/publication/269987224>

- 894 Vazzoler, A. E. A. M. (1996). *Biologia da Reprodução de peixes Teleósteos: Teoria e Prática*.
895 Maringá: EDUEM. p. 169, 1996. Disponível em: <http://old.periodicos.uem.br/>
- 896 Viveiros, A.T.M., Orfão, L.H., Nascimento, A.F., Correa, F.M., Caneppelec, D., (2012).
897 Effects of extenders, cryoprotectants and freezing methods on sperm quality of the threatened
898 Brazilian freshwater fish pirapitinga-do-sul *Brycon opalinus* (Characiformes). *Theriogenology*
899 78 (2), 361–368. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.02.015>
- 900 Wilson-Leedy, J. G., Ingermann, R. L., 2007. Development of a novel CASA system based on
901 open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters.
902 *Theriogenology* 67 (2007) 661–672. Doi:[10.1016/j.theriogenology.2006.10.003](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.003)
- 903 Witeck, L., Bombardelli, R. A., Sanches, E. A., Oliveira, J. D. S., Baggio, D. M., & Souza, B.
904 E., 2011. Motilidade espermática, fertilização dos ovócitos e eclosão dos ovos de jundiá em
905 água contaminada por cádmio. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.40, n.3, p.477-481, 2011.
906 Doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000300003>