

Aracaju, SE / Outubro, 2025

## Morfologia espermática de tambaqui (*Colossoma macropomum*): protocolo e parâmetros de referência para avaliação da qualidade seminal

Alexandre Nizio Maria<sup>(1)</sup>, Hymerson Costa Azevedo<sup>(1)</sup>, Rodrigo Yudi Fujimoto<sup>(1)</sup>, Paulo César Falanghe Carneiro<sup>(1)</sup>, Jéssica Queiroz Pardo<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Pesquisador, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. <sup>(2)</sup> Médica Veterinária.

### Introdução

Este trabalho é a atualização do Comunicado Técnico 207 da Embrapa Tabuleiros Costeiros, originalmente publicado em 2017 (Maria et al., 2017) que apresentou de forma detalhada um protocolo simples de avaliação da morfologia espermática do sêmen de tambaqui (*Colossoma macropomum*). A nova versão incorpora valores de referência recentemente estabelecidos para as principais alterações morfológicas dos espermatozoides de tambaqui, baseados na análise seminal de mais de 100 reprodutores sexualmente maduros. Essa atualização visa ampliar a aplicabilidade diagnóstica da análise morfológica, fornecendo parâmetros objetivos para avaliação da qualidade seminal e seleção criteriosa de reprodutores.

A avaliação morfológica espermática é uma ferramenta fundamental na reprodução assistida, permitindo a identificação de alterações estruturais dos espermatozoides que comprometem a fertilidade do sêmen e consequentemente do reprodutor. O tambaqui é atualmente a espécie nativa de peixe mais cultivada no Brasil, e a padronização de protocolos andrológicos específicos para a espécie representa um avanço estratégico para a melhoria genética dos plantéis, a otimização da produção de alevinos e a multiplicação e conservação de germoplasma.

Originário da bacia Amazônica, o tambaqui é cultivado em diversos países da América do Sul e se destaca na piscicultura brasileira pela sua elevada

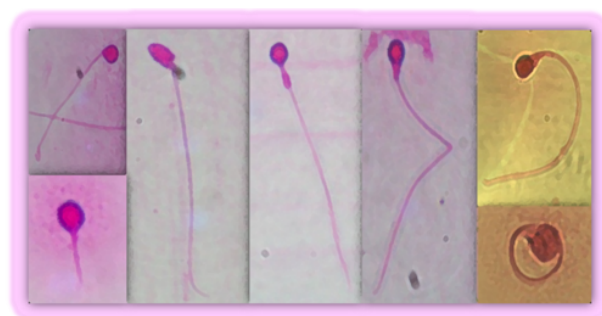


Foto: Alexandre Nizio Maria

**Figura 1.** Espermatozoides de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

adaptabilidade ao cativeiro, excelente desempenho zootécnico, alto valor de mercado e carne amplamente apreciada pela população. No Brasil, a engorda dessa espécie ocorre majoritariamente em viveiros escavados e tanques-rede instalados em grandes reservatórios, caracterizando sistemas intensivos e semi-intensivos que demandam, como insumo primário, formas jovens destes animais. Para atender a essa demanda, diversas pisciculturas especializadas na produção de alevinos e juvenis mantêm laboratórios de reprodução e plantéis de reprodutores. Entretanto, a crescente exigência por descendentes de alto desempenho tem impulsionado melhorias nos sistemas de criação de reprodutores e nos métodos aplicados à produção.

Nesse cenário, a seleção de reprodutores férteis, por meio de avaliações andrológicas, torna-se etapa essencial do manejo reprodutivo em pisciculturas voltadas à produção de alevinos. A escolha de machos com sêmen de alta qualidade potencializa o desempenho reprodutivo dos plantéis. Além disso, essa prática contribui para a conservação e disseminação do material genético, auxiliando na redução da consanguinidade, uma condição comum nos plantéis de tambaqui, especialmente no Nordeste brasileiro.

A análise morfológica dos espermatozoides vem sendo amplamente empregada na seleção de doadores de sêmen para reprodução assistida e em biotecnologias aplicadas a diversas espécies animais. Mais recentemente, seu uso tem sido estendido a peixes de interesse econômico. Essa análise permite avaliar a integridade estrutural dos espermatozoides considerando sua estrutura básica, cabeça, peça intermediária e cauda, gerando parâmetros diretamente relacionados à sua capacidade de fertilização e, portanto, à fertilidade do sêmen. Alterações em qualquer uma dessas estruturas pode comprometer a funcionalidade dos espermatozoides a exemplo da motilidade, fecundação e desenvolvimento embrionário.

Para a avaliação morfológica, o sêmen deve ser fixado com soluções preservadoras que estabilizem as características estruturais dos espermatozoides. O preparo dos esfregaços requer corantes específicos (Arruda et al., 2011; Streit Júnior et al., 2004), que facilitam a visualização das estruturas espermáticas as quais são naturalmente translúcidas e de pequenas dimensões, como ocorre no tambaqui.

As alterações morfológicas podem decorrer de fatores naturais ou primários como os ambientais, sanitários, fisiológicos ou genéticos e de fatores artificiais ou secundários advindos da intervenção humana no processo. As alterações primárias, por exemplo, surgem durante a espermatogênese e podem ser agravadas por má nutrição, enfermidades ou estresse. Já as alterações secundárias resultam frequentemente de falhas na coleta do sêmen, como aplicação excessiva de pressão sobre os testículos (Maria et al., 2011), ou na manipulação inadequada das amostras, durante a confecção dos esfregaços ou uso da câmara úmida. Além da distinção entre alterações primárias e secundárias, é comum classificá-las como maiores, quando comprometem significativamente a fertilização, ou menores, quando seu impacto é menos relevante (Blom, 1973; Colégio..., 2013).

Aliada a outras análises, a morfologia espermática permite eliminar previamente e preizer o

desempenho reprodutivo dos machos e otimizar o uso de biotecnologias como a criopreservação. Contudo, a maioria das metodologias andrológicas aplicadas ao tambaqui baseia-se em protocolos desenvolvidos para mamíferos (Blom, 1973; Barth; Oko, 1989; Silva et al., 2016) ou para outras espécies de peixes, o que pode comprometer sua eficácia (Colégio..., 2013).

Dessa forma, o desenvolvimento e a padronização de um protocolo específico para a avaliação andrológica do tambaqui têm o potencial de aumentar a eficiência na seleção de reprodutores, seja para suprir o mercado de alevinos e juvenis, seja para compor bancos de sêmen voltados à conservação e ao melhoramento genético. Neste documento, apresenta-se detalhadamente um protocolo atualizado, simples e eficaz para a avaliação morfológica do sêmen de tambaqui.

## Protocolo de avaliação morfológica dos espermatozoides

As soluções utilizadas no procedimento são simples, podendo ser preparadas em laboratório próprio ou em laboratórios de manipulação.

### Preparo das soluções de trabalho

#### • Solução de Formol Citrato:

##### Reagentes utilizados:

- 4 mL de formol (37%)
- 2,9 g de citrato de sódio
- 100 mL de água destilada

##### Método de preparo:

- Dissolver 2,9 g de citrato de sódio em 50 mL de água destilada;
- Acrescentar 4 mL de formol (37%);
- Completar o volume com água destilada até 100 mL;
- Armazenar em frascos de vidro a 4 °C.

#### • Solução de Rosa Bengala:

##### Reagentes utilizados:

- 3 g de Rosa Bengala
- 100 mL de água destilada

##### Método de preparo:

- Dissolver o Rosa Bengala em 50 mL de água destilada;

- 2) Completar com água destilada até o volume de 100 mL;
- 3) Filtrar a solução em filtro de papel;
- 4) Armazenar em frascos de vidro âmbar a 4 °C;

### Fixação e coloração da amostra e confecção da lâmina

- 1) Diluir uma alíquota de sêmen em solução fixadora de formol citrato na proporção de 1:99 (sêmen:solução). A amostra pode ser conservada em solução fixadora dentro de microtubo hermeticamente fechado por 30 dias sem nenhuma alteração;
- 2) Adicionar sobre uma lâmina de trabalho, em uma das suas extremidades, uma gota de 15 µL de sêmen fixado;
- 3) Adicionar sobre a gota de sêmen fixado, 0,5 µL de solução de rosa bengala na proporção de 1:30 (corante: sêmen fixado) e homogeneizar levemente (Figura 2 A).

4) Posicionar uma lâmina extensora em um ângulo de 45° sobre a lâmina de trabalho numa posição posterior à amostra (Figura 2 B). Esta precaução faz com que a amostra se espalhe naturalmente com o movimento do esfregaço (Figura 2 C), evitando que a amostra seja empurrada e provoque lesões aos espermatozoides;

5) Deslocar suavemente a lâmina extensora sobre a lâmina de trabalho até que sua extremidade toque a amostra (Figura 2 B e C);

6) Aguardar que a amostra se espalhe lateralmente por capilaridade (Figura 2 C);

7) Mantendo-se o mesmo ângulo de 45°, fazer um deslocamento suave e uniforme da lâmina extensora para o lado oposto a posição inicial da amostra, espalhando por distensão toda a amostra pela lâmina de trabalho até que se forme uma área franjada na parte final do esfregaço chamada de cauda (Figura 2 C e D);

8) Secar imediatamente a lâmina em temperatura ambiente agitando-a no ar;

9) Identificar a lâmina na sua extremidade com marcador permanente e/ou etiqueta.

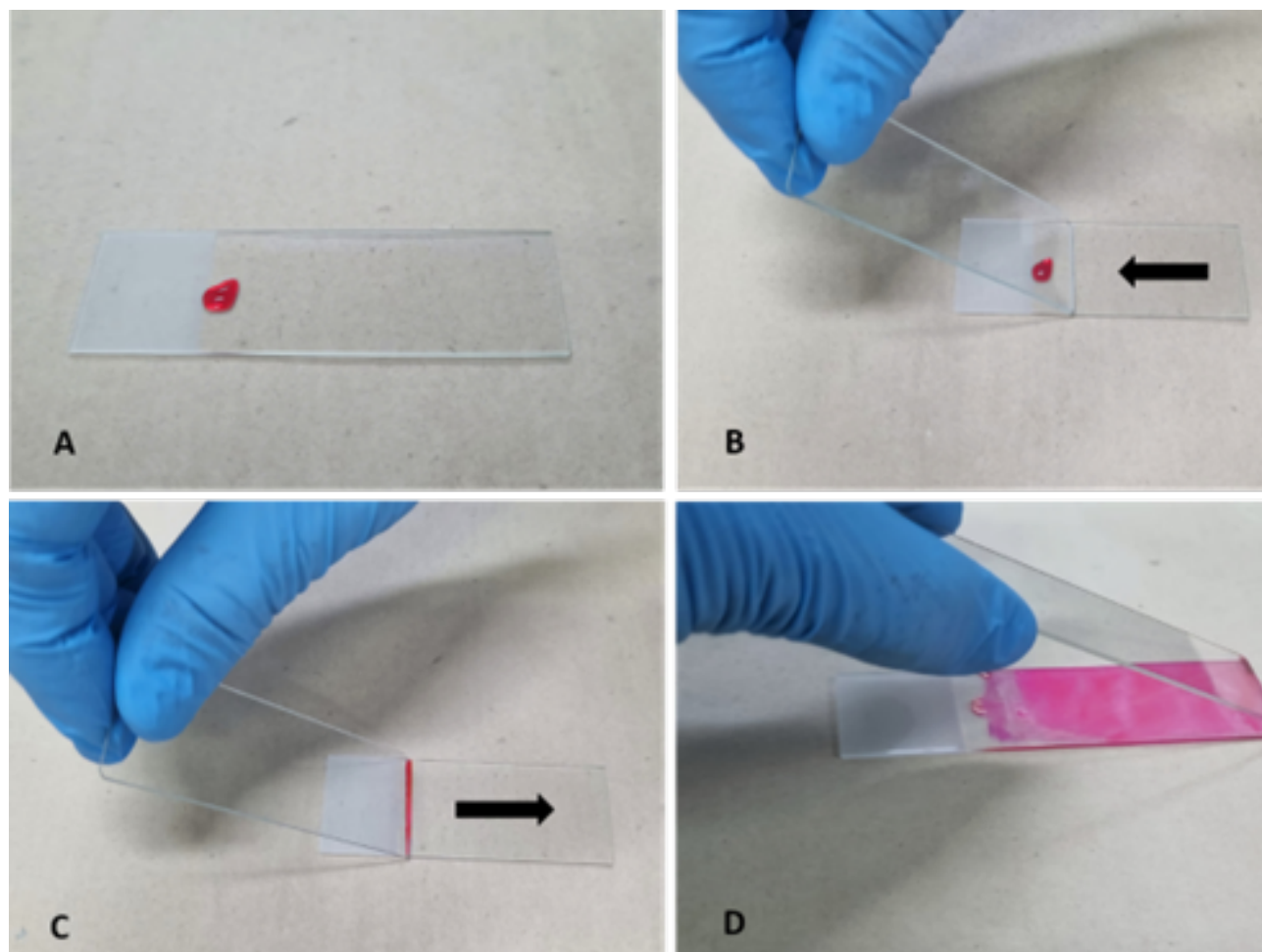


Figura 2. Confecção de um esfregaço de amostra de sêmen corada.

## Leitura e Interpretação das lâminas

Para avaliar as alterações na estrutura dos espermatozoides, é necessário primeiro conhecer a morfologia de uma célula normal. Resumidamente, um espermatozoide normal de tambaqui apresenta uma cabeça redonda (comprimento:  $2,73 \pm 0,21 \mu\text{m}$  e largura:  $2,58 \pm 0,18 \mu\text{m}$ ), uma peça intermediária triangular (comprimento:  $2,90 \pm 0,52 \mu\text{m}$ ) e um flagelo longo (comprimento:  $29,84 \pm 1,63 \mu\text{m}$ ) (Maria et al., 2010).

Para realização do procedimento de avaliação das lâminas devem-se seguir os seguintes passos:

1) Focar a lâmina em um microscópio óptico com objetiva de imersão, atingindo uma magnitude final de 1000x;

2) Iniciar a avaliação, percorrendo a lâmina com movimentos em zigue-zague para garantir uma amostragem aleatória dos campos. Evitar as extremidades da lâmina, onde a amostra costuma estar muito espessa, com maior possibilidade de sobreposições de células, ou muito fina, com poucas células espaçadas.

3) Contar, com auxílio de um contador de células, 100 espermatozoides, classificando-os conforme sua morfologia: normais, com defeito de cabeça, com defeito de peça intermediária e com defeito de cauda (conforme Tabela 1 e Figura 3);

4) Contar apenas um defeito por célula anormal. Se forem observados dois ou mais defeitos na mesma célula deve-se registrar apenas um defeito

por espermatozoide, classificando-a sempre pelo mais grave, seguindo a ordem: 1º Cabeça > 2º Peça Intermediária > 3º Cauda;

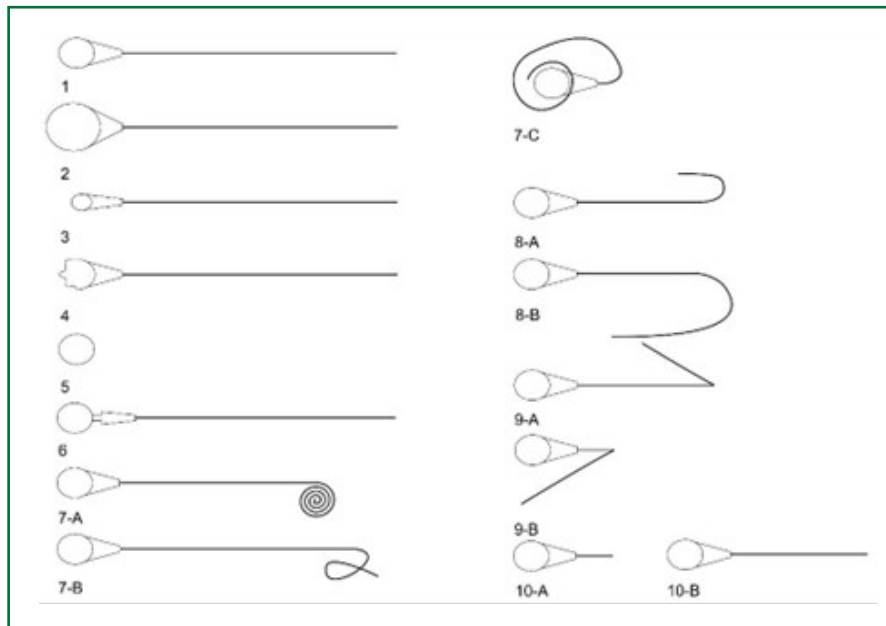
5) Calcular o percentual total de células anormais, subtraindo o percentual de células normais de 100%, conforme a fórmula: Total de Anormalidades (%) = 100% - % de Espermatozoides Normais.

Os espermatozoides também podem apresentar duas cabeças ou gota citoplasmática que são alterações morfológicas mais raras que também devem ser registradas e contabilizadas quando encontradas na amostra.

Na Figura 3 são apresentadas ilustrações das principais alterações morfológicas dos espermatozoides de tambaqui, contemplando o sêmen fresco, refrigerado e congelado, aplicáveis tanto em manejos de rotina quanto em estudos de campo e laboratório. Elas estão organizadas em quatro grupos: espermatozoides normais, alterações na cabeça, alteração na peça intermediária e alterações na cauda. As ilustrações foram elaboradas mantendo a proporcionalidade visual entre as estruturas, de acordo com o tipo de alteração retratada, com o objetivo de representar de forma esquemática as características descritas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Alterações morfológicas dos espermatozoides de tambaqui.

Alteração morfológica	Característica
Macrocefalia (Ma)	Cabeça com tamanho aumentado.
Microcefalia (Mi)	Cabeça com tamanho reduzido.
Cabeça degenerada (CDe)	Cabeça de tamanho normal, mas que apresenta contorno irregular.
Cabeça isolada normal (CIN)	Cabeça sem cauda, porém de tamanho normal e sem qualquer contorno irregular.
Peça intermediária degenerada (PID)	Alterações na espessura e/ou comprimento da peça intermediária envolvendo seu formato ou sua inserção na cabeça.
Cauda enrolada (CE)	Dobradura e enovelamento do flagelo sobre si mesmo ou sobre a cabeça.
Cauda dobrada (CD)	Dobradura do flagelo, em diversos graus, sem envolver a si mesmo ou a cabeça.
Cauda fraturada (CF)	Fratura em uma região da cauda com sua retenção.
Cauda curta (CC)	Flagelo mais curto que o normal.



**Figura 3.** Principais alterações morfológicas nos espermatozoides de tambaqui (*Colossoma macropomum*). 1. Espermatozoide normal; Alterações na cabeça: 2. Macrocefalia, 3. Microcefalia, 4. Degenerada, 5. Isolada normal; 6. Peça intermediária degenerada; Alterações na cauda: 7. A-C Cauda enrolada, 8. A-B Cauda dobrada, 9. A-B Cauda Fraturada, 10. A-B Cauda curta. Ilustração esquemática com proporções aproximadas entre as partes, sem escala real.

## Frequência das Alterações Morfológicas e Valores de Referência

Este comunicado estabelece padrões de referência para a morfologia de espermatozoides de tambaqui (*Colossoma macropomum*), com o objetivo de auxiliar na seleção de machos aptos à reprodução e que contribuam para o bom desempenho reprodutivo dos plantéis em pisciculturas. Esses padrões foram definidos com base em dois parâmetros principais: (i) a frequência com que as alterações espermáticas são encontradas no plantel e (ii) os valores de referência para a proporção de cada alteração em uma única amostra de sêmen.

A frequência de ocorrência no plantel de reprodutores identifica e ordena as alterações espermáticas de acordo com sua prevalência na população de tambaqui. Esse parâmetro indica quão disseminada é uma determinada alteração morfológica, revelando quais são as mais comuns entre os reprodutores.

O valor de referência por amostra seminal descreve a faixa (mínimo e máximo) em que a proporção

de cada alteração morfológica foi observada nas amostras analisadas. Esse parâmetro é importante por estabelecer uma faixa de normalidade para a espécie, definindo assim o padrão esperado de variação morfológica no plantel.

A partir da análise dos resultados, observou-se que as alterações morfológicas na cauda são as mais críticas para a espécie. A cauda dobrada (CD) e a cauda enrolada (CE) foram as alterações mais prevalentes, observadas em 99% e 86% dos reprodutores, respectivamente. Além disso, foram as alterações com os valores de referência mais elevados por amostra seminal (CD = 19,4% e CE = 11,3%).

Alterações morfológicas na cabeça dos espermatozoides, como cabeça isolada normal (CIN) e cabeça degenerada (CDe), também foram frequentes, afetando 65% e 49% dos reprodutores. Contudo, seus valores de referência por amostra seminal foram consideravelmente mais baixos ( $\leq 5,0\%$ ). As demais alterações morfológicas, embora presentes no plantel, mantiveram-se com valores de referência muito baixos ( $\leq 4,1\%$ ).

**Tabela 2.** Frequência das principais alterações morfológicas dos espermatozoides em um plantel de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e valores de referência por amostra seminal.

Alteração morfológica	Frequência de ocorrência no plantel de reprodutores (%)	Valores de referência por amostra seminal (%)*
Macrocefalia (Ma)	23	0,0 - 1,1
Microcefalia (Mi)	9	0,0 - 0,4
Cabeça degenerada (CDe)	49	0,0 - 3,0
Cabeça isolada normal (CIN)	65	0,0 - 5,0
Peça intermediária degenerada (PID)	38	0,0 - 3,0
Cauda enrolada (CE)	86	0,0 - 11,3
Cauda dobrada (CD)	99	3,5 - 19,4
Cauda fraturada (CF)	69	0,0 - 4,1
Cauda curta (CC)	49	0,0 - 3,0

\*Nota: Os valores de referência apresentados foram definidos com base na distribuição dos dados observados em mais de 100 reprodutores, utilizando os percentis 5% e 95% como limites inferior e superior para cada alteração morfológica avaliada.

## Considerações finais

Este trabalho atualiza e aprimora o Comunicado Técnico 207 avançando na padronização da avaliação morfológica dos espermatozoides de tambaqui, especialmente por incluir valores de referência para as principais alterações observadas na espécie. Os procedimentos descritos são de fácil aplicação e podem ser incorporados rotineiramente às práticas de seleção e manejo de reprodutores.

O percentual total de alterações morfológicas no sêmen de tambaqui varia de 9% a 35%, faixa que pode ser utilizada como parâmetro técnico auxiliar na avaliação da qualidade seminal. Esse critério deve ser interpretado de forma conjunta com outros parâmetros reprodutivos, considerando as características e condições específicas de cada plantel.

A divulgação dessas informações visa apoiar técnicos e profissionais envolvidos com a análise andrológica de tambaqui, e podem potencialmente ser aplicadas a outras espécies de peixes, no aprimoramento de seus processos e na aplicação prática em campo. A adoção consistente dessa técnica pode contribuir para o aumento da eficiência reprodutiva dos plantéis, otimizar a oferta de alevinos e reforçar iniciativas voltadas à conservação dos recursos genéticos da espécie.

## Referências

- ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, E. C. C.; ALONSO, M. A.; CARVALHO, H. F.; OLIVEIRA, L. Z.; NASCIMENTO, J.; SILVA, D. F.; AFFONSO, F. J.; LEMES, K. M.; JAIMES, J. D. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n. 2, p.145-151, abr./jun. 2011.
- BARTH, A. D., OKO, R. J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa**. Ames, Iowa: Iowa State University Press, 1989. 285 p.
- BLOM, E. Ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of bull spermogram. **Nordisk Veterinary Medicine**, v. 25, p. 383-391, 1973.
- COLÉGIO BRASILEIRO REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3. ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013. 104 p.
- MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; SANTOS, J. P.; SILVA, C. A.; CARNEIRO, P. C. F. Semen characterization and sperm structure of the Amazon tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 26, p.779-783, 2010.

MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; SANTOS, J. P.; CARNEIRO, P. C. F. Hormonal induction and semen characteristics of tambaqui *Colossoma macropomum*. **Zygote**, v. 20, p. 39-43, fev., 2011.

MARIA, A. N.; AZEVEDO, H. C.; FUJIMOTO, R. Y.; CARNEIRO, P. C. F.; PARDO, J. Q. **Protocolo para avaliação morfológica de espermatozoides de tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2017. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Comunicado Técnico, 207).

SILVA, A. E. D. F.; MARTINS, C. F.; SILVA, C. G.; CUNHA, E.; CARVALHO, J. O.; DODE, M. A. N. **Atlas de morfologia espermática bovina**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. v. 1. 100 p.

STREITJÚNIOR, D. P.; MORAES, G. V.; RIBEIRO, R. P.; POVH, J. A.; SOUZA, E. D.; OLIVEIRA, C. A. L. Avaliação de diferentes técnicas para coloração de sêmen de peixes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v. 7, n. 2, p. 157-162, jul./dez. 2004.

**Embrapa Tabuleiros Costeiros**

Av. Gov. Paulo Barreto de Menezes, no 3250  
CEP 49025-040, Aracaju, SE  
<https://www.embrapa.br/tabuleiros-costeiros>  
[www.embrapa.br/fale-conosco/sac](http://www.embrapa.br/fale-conosco/sac)

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Amaury da Silva dos Santos*

Secretário-executivo: *Aline Gonçalves Moura*

Membros: *Aldomario Santo Negrissoli Junior, Marcos Aurélio Santos da Silva, Fabio Enrique Torresan, Ana Veruska Cruz da Silva Muniz, Viviane Talamín, Amaury Apôlonio de Oliveira, Joézio Luiz dos Anjos, Alitiene Moura Lemos Pereira e Josué Francisco da Silva Júnior*

**Comunicado Técnico 253**

ISSN 1678-1937  
Outubro, 2025

Edição executiva, revisão de texto e diagramação:  
*Aline Gonçalves Moura*

Normalização bibliográfica: *Josete Cunha Melo*  
(CRB-5/1383)

Projeto gráfico: *Leandro Sousa Fazio*

Publicação digital: PDF



**Ministério da  
Agricultura e Pecuária**

Todos os direitos reservados à Embrapa.