

## Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores<sup>1</sup>

*Induced breeding in migratory fishes*

Evoy Zaniboni Filho<sup>2</sup>, Marcos Weingartner

Departamento de Aquicultura/CCA/UFSC – Caixa Postal 476 – Florianópolis, SC

<sup>2</sup>Correspondência: [evoy@lapad.ufsc.br](mailto:evoy@lapad.ufsc.br)

### Resumo

O desenvolvimento das técnicas de indução da reprodução de peixes migradores permitiu um notável incremento qualitativo na piscicultura mundial, possibilitando a regularidade na produção de alevinos destinados ao cultivo. Anteriormente, a obtenção das formas jovens dessas espécies dependia da captura no ambiente natural. Dentre as espécies migradoras estão as que apresentam maior preço de mercado. O conhecimento da fisiologia da reprodução associado aos estudos de biologia de peixes permitiu a determinação de procedimentos de manejo que permitem a maturação gonadal dos peixes em cativeiro, bem como a indução dos processos de maturação final dos gametas e a subsequente fertilização.

**Palavras-chave:** peixes migradores, indução da reprodução.

### Abstract

*The development of induced breeding techniques in migratory fishes allowed to a great qualitative increment in the world-wide fish farming, making it possible to regulate fingerlings production to fish culture. Previously fingerlings of these species were obtained from natural environment. Among migratory species, there are ones with greater economic values. The knowledge of fish reproduction's physiology associated to studies of fish biology allowed the determination of handling procedures to make it possible the gonadal maturation of fishes in captivity as well as the induction of the final maturation processes of gametes and the subsequent fertilization.*

**Keywords:** migratory fishes, induced reproduction.

### Introdução

O desenvolvimento da piscicultura mundial esteve centrada, durante séculos, no cultivo de peixes que se reproduzem naturalmente em ambientes lênticos, apesar dos peixes migradores, via de regra, apresentarem maior preço de mercado. Essa tendência foi motivada pela dificuldade de induzir a reprodução dessas espécies para a produção das formas jovens. Assim, a possibilidade de uma espécie de peixe reproduzir-se naturalmente em cativeiro, foi considerada, durante vários anos, uma característica desejável para uma espécie destinada ao cultivo, como sugere Huet (1978). Atualmente, o fato de uma espécie não se reproduzir em cativeiro, durante a fase de engorda, pode ser considerado como uma vantagem, pois permite que a energia fornecida no alimento seja canalizada ao crescimento do corpo, ao invés de direcionada para o desenvolvimento gonadal e comportamento reprodutivo.

Os primeiros trabalhos de indução à desova de peixes reofílicos foram desenvolvidos paralelamente na Argentina (Houssay, 1930) e no Brasil (Ihering, 1935), quando foram obtidos resultados positivos de indução à maturação final e desova de peixes migradores, a partir da aplicação de hormônios naturais presentes na hipófise de peixes maduros. Essa técnica continua sendo uma das alternativas utilizadas para induzir a reprodução de peixes migradores em todo mundo, sendo conhecida como “hipofisacão”.

Passadas as experiências bem sucedidas da equipe de Rodolpho von Ihering, somente foram obtidos resultados expressivos no desenvolvimento de tecnologia da reprodução de peixes migradores brasileiros na década de 1970, com a equipe do Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS). Até o início de 1990, foram obtidos resultados positivos de indução hormonal a maturação final e desova de vários peixes migradores brasileiros, quer através da hipofisacão ou da aplicação de hormônios sintéticos (Zaniboni Filho e Barbosa, 1996).

### Ciclo reprodutivo de peixes

A maioria dos peixes tropicais desova várias vezes na vida, sendo este um processo que ocorre em intervalos que se repetem. Entre as espécies, os ovócitos podem maturar todos de uma única vez e serem liberados em um período do ano, sendo, portanto, produzidos em um único lote, ou os ovócitos podem maturar

<sup>1</sup>Palestra apresentada no XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 31 de maio a 02 de junho de 2007, Curitiba, PR.

em lotes distintos, sendo eliminados em intervalos durante a estação reprodutiva, ou ainda, sem sazonalidade. As espécies pertencentes ao primeiro grupo, de acordo com Bagenal (1978), são denominadas “desovadoras totais”, enquanto o segundo são “desovadoras múltiplas”.

Apesar das distintas espécies de peixes apresentarem particularidades no comportamento reprodutivo, mostrando gradações entre as categorias apresentadas, no conjunto, as desovadoras totais apresentam estações de desova mais bem definidas e são mais fecundas, produzindo numerosos ovócitos pequenos, sendo que muitas delas realizam longas migrações, enquanto as desovadoras múltiplas apresentam estações de reprodução menos definidas e realizam apenas deslocamentos locais para áreas de reprodução (Lowe-McConnel, 1999).

Parece lógico que o processo de seleção natural direcione a produção dos jovens no período do ano mais favorável para a sua sobrevivência, quando existe alimento abundante para um crescimento rápido e maior proteção contra predadores. Entre os desovadores totais, em rios tropicais, o início da estação de cheias é o principal período de desova para peixes cujas larvas se alimentam nas planícies de inundação. A estratégia de realizar migrações entre os locais de alimentação e desova é bastante comum em desovadores totais brasileiros (Ribeiro, 1983; Zaniboni-Filho, 1985). Esta estratégia de realizar migração permite que algumas espécies de peixes maximizem o aproveitamento do ecossistema, buscando os melhores locais para cada uma das etapas do ciclo de vida.

#### *Controle hormonal e desenvolvimento gonadal*

Considerando-se que o objetivo da reprodução é a produção de jovens que possam atingir a idade adulta e procriar (Lowe-McConnel, 1999), o sucesso da reprodução depende de um ajuste temporal que garanta que a desova ocorra no melhor local e no momento exato, quando as condições ambientais se apresentem as mais favoráveis para a sobrevivência dos descendentes. Dessa forma, a sincronia entre os processos fisiológicos de maturação gonadal com as condições ambientais faz-se extremamente necessária.

Uma série de mecanismos de ajuste está envolvida no processo de maturação gonadal e desova, basicamente através de controles hormonais. No início do desenvolvimento gonadal ocorre um aumento no nível de gonadotropina na hipófise e no plasma, servindo provavelmente para recrutar os ovócitos e iniciar a vitelogênese no período reprodutivo corrente (Zohar, 1989). Essa elevação da gonadotropina estimula o aumento na concentração de testosterona e estrogênio, porém, esses níveis diminuem rapidamente (Carolsfeld, 1989). Apesar disso, a vitelogênese persiste mesmo na aparente ausência de elevados níveis de gonadotropina (Peter, 1983). No final da vitelogênese, o nível de gonadotropina volta a crescer na hipófise e no plasma, assim como a testosterona e estrogênio do plasma. Não existe um padrão de variação da concentração destes hormônios no plasma sanguíneo, relacionado ao estágio de desenvolvimento gonadal, nas distintas espécies de peixes.

Numa determinada época do ano, em resposta a estímulos ambientais, ocorrem periódicas descargas de gonadotropina na corrente sanguínea que induzem o início da vitelogênese. A duração da vitelogênese pode ser reduzida artificialmente, através da aplicação de pequenas injeções de hormônio de crescimento (GtH) ou por intermédio de implantes que possibilitam a liberação lenta e prolongada de hormônio liberador da gonadotropina (GnRH) e testosterona (Harvey e Carolsfeld, 1993).

Depois de concluída a vitelogênese, a atividade ovariana se torna mais reduzida e permanece em sintonia com a adequação das condições ambientais, garantindo assim, que a liberação dos ovócitos coincida com o período em que as características ambientais estejam mais adequadas, para propiciar a máxima sobrevivência da prole. Esta fase é conhecida como “período de dormência” e sua duração varia de uma espécie para outra, sendo observado, para peixes brasileiros, um período desde poucas semanas até alguns meses.

A extensão do período de dormência é muito afetada pelas condições em que os reprodutores são mantidos, tais como: qualidade de água, alimentação e a frequência de manejo. Decorrido o período de dormência, caso as condições ambientais não tenham desencadeado a maturação final e a desova posterior, tem início o processo de atresia folicular ou reabsorção celular, seguido pelo rearranjo gonadal (Woynarovich e Horváth, 1983; Vazzoler, 1996).

Durante o “período de dormência”, quando as condições ambientais são propícias, tem início a etapa final de maturação gonadal. A fase final de maturação dos ovócitos é caracterizada pela migração da vesícula germinal (núcleo) para a periferia celular e a sua posterior desintegração, quando os ovócitos estão prontos para serem eliminados do envelope folicular (Vazzoler, 1996). A liberação dos ovócitos na luz do ovário se dá após uma pequena hidratação dos ovócitos, promovendo o aumento de volume destes, e o conseqüente rompimento do envelope folicular. Essa fase é conhecida como ovulação. Após o rompimento da ligação com as células foliculares, os ovócitos deixam de manter uma ligação com a corrente sanguínea que lhes proporciona suprimento alimentar e possibilita as trocas gasosas. As reservas alimentares do ovócito garantem a sobrevivência até o início da alimentação exógena, que ocorre dias depois da ovulação, porém, as trocas gasosas que passam a ocorrer por difusão direta, definem um curto tempo para a eliminação de ovócitos viáveis.

Trabalhos com peixes migradores sul americanos tem revelado que a fertilidade dos ovócitos diminui rapidamente após a ovulação, havendo correspondente aumento das anormalidades larvais. A taxa de fertilização

em *Prochilodus marginatus* foi inferior a 30%, após 90 minutos da ovulação, e menor que 10%, após 120 minutos (Rizzo, *et al.*, 2003).

### **Possibilidades de indução à maturação gonadal, ovulação e desova**

#### *Preparação e seleção dos reprodutores*

As condições de cultivo afetam fortemente o desenvolvimento gonadal, principalmente durante a fase de vitelogênese, de modo que, uma limitação na qualidade ou quantidade do alimento, densidade de estocagem excessiva e o estresse, podem induzir a reabsorção de ovócitos vitelogênicos, resultando num menor número de ovócitos maduros, ou ainda, podem atuar numa fase anterior, impedindo o início da vitelogênese (Harvey e Carolsfeld, 1993). Uma revisão sobre os procedimentos indicados para a preparação dos reprodutores de peixes migradores brasileiros, considerando os aspectos relacionados com a densidade de estocagem, alimentação, domesticação, fotoperíodo e temperatura é apresentada por Zaniboni Filho e Nuñez (2004).

A capacidade de seleção de peixes maduros é vital para o sucesso do processo de indução da maturação final e desova, sendo considerada a etapa mais importante para o sucesso da desova. Apesar da enorme importância da seleção de peixes maduros, os critérios utilizados pelos produtores estão baseados em características subjetivas, tais como: fêmeas com abdômen dilatado e macio que apresentam a papila genital intumescida e avermelhada (Woynarovich e Horváth, 1983). A seleção dos machos, para maioria das espécies migradoras brasileiras, é feita através da pressão abdominal dos peixes, de modo que os peixes maduros eliminam pequenas quantias de sêmen.

A dificuldade para padronização dos critérios para seleção dos reprodutores tem estimulado trabalhos de pesquisa na busca de métodos mais objetivos, principalmente para as fêmeas. Dessa forma, tem sido recomendada a realização de biopsia ovariana para análise do diâmetro médio dos ovócitos (Kuo e Nash, 1975), a distribuição de frequência dos diferentes tamanhos de ovócitos (Romagosa *et al.*, 1990), a posição da vesícula germinal (Bruzska, 1979), e mais recentemente, vem sendo utilizada a análise do fator de condição relativo, proposta inicialmente por Le Cren (1951) e aplicada para a seleção de reprodutores sul americanos (Eckmann, 1984).

Apesar da diversidade de procedimentos recomendados para garantir a seleção adequada dos reprodutores, persistem as diferenças que são observadas entre indivíduos ou situações, talvez afetados pela temperatura, estresse ou outro fator ambiental, ou ainda, algum fator do processo de maturação gonadal ainda não determinado (Carolsfeld, 1989). Esse fato pode ser comprovado pela dificuldade das estações de piscicultura em obter a desova da totalidade dos peixes migradores brasileiros selecionados. Considerando-se a revisão apresentada por Zaniboni Filho e Barbosa (1996), onde são apresentados dados provenientes de trabalhos de pesquisa e do setor produtivo, observa-se que das oito espécies brasileiras testadas, os valores positivos de desova variaram entre 50 e 90% dos peixes selecionados.

#### *Indução ambiental e hormonal*

A possibilidade de estimular a reprodução dos peixes migradores através da indução ambiental é uma realidade; afinal, esse é o mecanismo que desencadeia todo o processo em condições naturais. Apesar disso, a complexidade dos mecanismos de controle do desenvolvimento gonadal e do comportamento reprodutivo dificulta muito a simulação em condições de cativeiro.

Kirschbaum (1984) realizou experimentos em aquários, nos quais, através da diminuição da condutividade, aumento do nível de água e simulação de chuvas, conseguiu induzir a maturação das gônadas de diferentes espécies de peixes.

Em trutas foi observado que a simples manipulação do fotoperíodo é suficiente para desencadear, ou mesmo acelerar, a vitelogênese. Por outro lado, em carpas, a influência da temperatura é mais importante que o comprimento do dia, de modo que a elevação da temperatura pode acelerar ou mesmo iniciar a vitelogênese (Harvey e Carolsfeld, 1993).

Resultados que comprovem o sucesso na indução ambiental para a maturação final e desova de peixes migradores brasileiros, é muito raro, há apenas o registro de Kossowski *et al.* (1986) com o tambaqui *Collossoma macropomum*.

A aplicação das técnicas convencionais de indução hormonal é indicada para peixes maduros, ou seja, aqueles que se encontram na “fase de dormência”. Nessa fase, conforme descrito no item “desenvolvimento gonadal”, a vitelogênese está completa nos ovócitos, sendo necessária a indução hormonal para garantir a maturação final e desova, que consiste basicamente na migração e a posterior desintegração da vesícula germinal, o rompimento do envelope folicular e a conseqüente liberação dos ovócitos na luz do ovário, seguido pela eliminação dos ovócitos. Para os machos, a função básica da indução hormonal é o aumento do volume de sêmen, que está mais associado com uma maior fluidez do sêmen produzido do que com o aumento do número

das células espermáticas.

### *Tipos de hormônios*

A utilização do extrato bruto da hipófise de peixes maduros continua sendo a técnica mais utilizada para a indução hormonal da maturação final dos peixes migradores brasileiros. Esse é o procedimento mais antigo utilizado para a indução hormonal da desova de peixes (Houssay, 1930; Ihering, 1935).

A técnica é simples e está baseada na importância da gonadotropina para a regulação da fase final do processo de maturação gonadal. A concentração máxima de gonadotropina na hipófise ocorre durante a fase final da vitelogênese e se estende por todo o período de dormência, quando se processa a coleta da hipófise de peixes doadores para aplicação nos reprodutores. Dessa forma, o processo atua como um complemento da quantidade de gonadotropina produzida pelo organismo receptor, substituindo a quantidade que deixou de ser processada pela ausência das condições ambientais favoráveis.

Foram obtidos resultados positivos na indução a maturação final, ovulação e/ou espermiacção de vários peixes migradores brasileiros com a utilização do extrato bruto de hipófise (Morais Filho e Schubart, 1955; Godinho e Godinho, 1986; Zaniboni Filho e Barbosa, 1996).

Os elevados preços das hipófises de carpa e de salmão, nos mercados nacional e internacional, estimularam a realização de trabalhos com a hipófise de outros animais, obtendo-se sucesso na indução à desova de peixes com hipófises de frango, pato e rã (Nwadukwe, 1993; Streit Jr., 2002) ou da urófise de peixes (Behr *et al.*, 2000).

A gonadotropina parcial ou totalmente purificada de peixes foi obtida desde 1970, possibilitando a obtenção de um produto bem mais específico que o extrato hipofisário (Donaldson e Hunter, 1983). A gonadotropina semipurificada de salmão (SG G100) chegou a ser produzida comercialmente, sendo um produto padronizado através de bioensaio e que permitia um longo período de estocagem, apesar disso, o preço elevado limitou o seu uso no setor produtivo (Harvey e Carolsfeld, 1993). No Brasil, há registro de um único trabalho que obteve sucesso na indução a desova de peixe de piracema (*Piaractus mesopotamicus*) com a utilização da SG G100 (Pinto e Castagnolli, 1984). Os demais trabalhos sempre associaram a aplicação de extrato bruto de hipófise com a gonadotropina semi-purificada de salmão.

A gonadotropina purificada de origem humana também foi testada, se mostrando um potente indutor da ovulação de várias espécies de peixes, apesar de não estimular todas as espécies. A grande diferença na estrutura molecular da HCG, comparada com a gonadotropina de peixes, tem exigido a aplicação de elevadas doses para estimular a maturação final de peixes, tornando o processo economicamente proibitivo (Harvey e Carolsfeld, 1993). Além disso, o uso continuado do HCG no plantel de reprodutores reduz o desempenho reprodutivo dos peixes (Donaldson e Hunter, 1983). Há registro de resultados positivos na indução à desova de peixes migradores brasileiros com o uso exclusivo de HCG (Valencia Ramos *et al.*, 1986).

A utilização dos hormônios liberadores de gonadotropinas (GnRH) para a indução a desova de peixes vem sendo utilizada com sucesso desde 1975 (Donaldson e Hunter, 1983). Esses hormônios são muito semelhantes entre os vertebrados superiores e inferiores, havendo pequenas alterações na estrutura molecular do decapeptídeo. Por essa razão, o hormônio liberador de gonadotropina de mamífero e os seus análogos são efetivos para induzir a desova de várias espécies de peixes. Como se trata de uma molécula pequena e simples, a síntese desse hormônio foi possível, abrindo possibilidade para alteração da estrutura molecular e a síntese de análogos, possibilitando a produção de hormônios 50 a 100 vezes mais potentes (Harvey e Carolsfeld, 1993). Apesar da existência de vários análogos no mercado, os mais utilizados para indução à maturação final de peixes são os análogos dos hormônios liberadores de gonadotropina (GnRH-a) de mamíferos e de salmão.

Há relativa confusão na literatura sobre a forma de apresentar esses dois análogos. Passaremos aqui a utilizar a terminologia proposta por Harvey e Carolsfeld (1993), que sugerem [D-Ala<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup> NEt] LHRH para o de mamífero e [D-Arg<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup> NEt] sGnRH para o análogo de salmão. Esses dois análogos são um nonapeptídeo devido à retirada da glicina presente originalmente na décima posição. Além disso, há substituição do peptídeo localizado na sexta posição pela alanina ou pela arginina, ambas na posição dextro, para o análogo de mamífero e de salmão, respectivamente.

Três grandes vantagens destes hormônios liberadores são verificadas sobre a gonadotropina na indução a maturação final e desova dos peixes. A primeira é que atuam no início da cadeia hormonal e estimulam o peixe a sintetizar a sua própria gonadotropina, eliminando assim os problemas relacionados a utilização de gonadotropina de outras espécies. A segunda é que a molécula não é altamente espécie-específica. Por último, são estruturas simples e facilmente fabricadas, apresentam grande estabilidade estrutural, são efetivas com pequenas dosagens de aplicação e o seu uso é economicamente vantajoso (Harvey e Carolsfeld, 1993).

A comparação dos resultados obtidos com a utilização do [D-Ala<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup> NEt] LHRH e com o extrato de hipófise, na indução da carpa capim (*Ctenopharingodon idella*), relevou que a taxa de mortalidade dos reprodutores é menor quando se utiliza o análogo (Donaldson e Hunter, 1983) e, com *Piaractus mesopotamicus*, foi verificada a produção qualitativa e quantitativamente semelhante dos gametas, porém, com o custo 4,5 vezes

menor quando o análogo foi utilizado (Zaniboni Filho, 1995).

Existem vários registros de sucesso na indução à desova de espécies migradoras de peixes brasileiros, com a utilização do GnRH-a de mamíferos ou de salmão (Bernardino e Ferrari, 1987; Carolsfeld *et al.*, 1988; Zaniboni Filho e Barbosa, 1996). Apesar disso, não foi possível induzir a desova do gênero *Brycon* com esses análogos (Ramos *et al.*, 1997).

O detalhamento dos estudos das formas de GnRH, presentes nas diferentes espécies de peixes, tem demonstrado a existência de três tipos, sendo que o padrão de distribuição dos diferentes tipos tem sido utilizado para elucidar o complexo processo evolutivo das distintas famílias e gêneros de peixes (Powell *et al.*, 1997). A explicação para a impossibilidade de induzir a maturação final e desova do gênero *Brycon*, com GnRH-a de mamífero ou de salmão, pode estar relacionada com os tipos de GnRH presentes nas espécies desse gênero.

Um outro análogo do GnRH, a busserelina, vem sendo utilizado com sucesso para a indução de peixes. Trata-se, igualmente, de um nonapeptídeo, porém apresenta a serina inserida na posição dextro em substituição ao sexto peptídeo. Este hormônio foi utilizado com sucesso na indução a maturação final e desova de peixes migradores brasileiros (Méndez e Rodríguez, 1989), porém, parece ser menos efetivo que os análogos de salmão e de mamífero, exigindo a aplicação de uma maior quantidade de hormônio para estimular a maturação final e desova (Curry e Tsukamoto, 1988).

#### *Métodos de administração*

Os hormônios utilizados para a indução à reprodução de peixes são hidrossolúveis, o que facilita a administração da dosagem necessária através de uma solução aquosa. Geralmente, a diluição é feita em água ou em solução salina (0,6% NaCl). Ao longo da evolução da técnica de indução hormonal, foram utilizadas outras soluções como veículo dos hormônios gonadotrópicos, tais como: extrato glicerinado e óleo de amendoim. Os resultados finais da indução, via de regra, são semelhantes com o uso dos diferentes solventes. A aplicação da solução é tradicionalmente feita via intramuscular ou intraperitonal. A aplicação desses hormônios através de solução aquosa permite que eles atinjam a circulação do peixe em minutos, quando são metabolizados e excretados (Harvey e Carolsfeld, 1993). Há possibilidade de diluir os hormônios gonadotrópicos em substâncias que são mais lentamente absorvidas pelo organismo, garantindo que a assimilação desses hormônios ocorra gradativamente, ao longo de dias ou semanas. São utilizadas substâncias orgânicas de grande peso molecular para garantir essa assimilação lenta, tais como: colesterol, celulose ou uma mistura de colesterol e celulose. A mistura do hormônio com essa substância produz um pellet que pode ser aplicado intramuscular ou intraperitonalmente. A quantidade de hormônio necessária para induzir a maturação final e a desova de peixes, através de implantes, é maior que aquela necessária com o uso de injeções (Harvey e Carolsfeld, 1993).

#### *Dosagens recomendadas*

A quantidade de hormônio gonadotrópico necessária para induzir a maturação final e desova dos peixes depende do grau de maturação dos reprodutores, da espécie e do método escolhido para fazer a aplicação. Dessa forma, a dosagem ideal recomendada para induzir diferentes espécies pode ser bastante distinta. Quando o hormônio utilizado é proveniente do extrato de hipófise, há ainda a variação da quantidade de gonadotropina presente na hipófise no momento da sua coleta, acrescida pela interferência que o processo de conservação pode oferecer na degradação do hormônio. Essa variação pode ser observada nos diversos protocolos indicados para peixes brasileiros.

Há inúmeras variações nos métodos para administração de hormônio em peixes, porém, as fêmeas geralmente requerem maiores doses de hormônio que os machos, sendo que doses parceladas produzem resultados melhores que uma única dose (Woynarovich e Horváth, 1983). O método típico para indução de peixes de água doce utiliza duas aplicações nas fêmeas: uma pequena dose para estimular a migração da vesícula germinal e 12 horas depois, uma dose grande para induzir a quebra da vesícula germinal, ovulação e desova (Woynarovich e Horváth, 1983). Os machos recebem geralmente uma única dose, no momento em que as fêmeas recebem a segunda aplicação. No Brasil, o procedimento usual utiliza hipófises de carpa desidratadas em acetona na dosagem de 5 a 6 mg de EPC por quilo de fêmea, enquanto os machos recebem entre 2 e 3 mg de EPC/kg (Harvey e Carolsfeld, 1993).

A dosagem dos análogos de GnRH recomendada para indução a desova de peixes é igualmente variável, tendo sido efetiva entre 1 e 100µg/kg, embora o setor produtivo utilize valores entre 5 e 20µg/kg (Harvey e Carolsfeld, 1993).

A aplicação de uma dosagem prévia de hormônio (0,25mg de EPC/kg), antes de iniciar o tratamento convencional de indução hormonal com EPC, ou com os análogos de GnRH, possibilita maior produção qualitativa e quantitativa dos gametas (Zaniboni Filho e Barbosa, 1996). Foi comprovado que a aplicação de pequenas doses preparatórias aplicadas em longos intervalos de tempo estimula o desenvolvimento dos primeiros estádios de maturação gonadal (Woynarovich, 1986). Essa capacidade das pequenas doses de estimular o

desenvolvimento gonadal pode estar auxiliando a reduzir as diferenças individuais do estágio de maturação gonadal no momento da seleção, possibilitando uma maior homogeneidade no lote. Além disso, pode estimular os receptores hormonais, ampliando os efeitos das aplicações subsequentes. Uma avaliação do efeito da dose prévia sobre o tratamento convencional com EPC ou com GnRH-a, em *Colossoma macropomum*, revelou que a simples aplicação da dose prévia possibilitou um incremento superior a 80% sobre o número de larvas produzidas (Zaniboni Filho e Barbosa, 1996).

### *Desova e Fertilização*

Várias espécies de peixes submetidas ao tratamento de indução hormonal iniciam a liberação dos óvulos, quando na presença de machos, após a ovulação (Woynarovich e Horváth, 1983). Neste caso, os óvulos são fertilizados pelos machos dentro do tanque sem a interferência do produtor. A definição de uma nomenclatura para caracterizar essa modalidade de desova tem sido controversa, sendo recomendada “reprodução induzida com desova natural” ou ainda, “desova semi-natural”.

Apesar disso, algumas espécies de peixes em condições de cativeiro não liberam os óvulos espontaneamente após a ovulação, sendo necessária a retirada dos gametas por extrusão (Woynarovich e Horváth, 1983). Essa é a técnica mais utilizada no Brasil, possibilitando bons resultados para diferentes espécies de peixes (Zaniboni Filho e Barbosa, 1996; Sato, 1999), apresentando a vantagem de reduzir a mão-de-obra operacional para a retirada dos ovos e permitir um maior controle da produção. Outras vantagens da desova por extrusão são destacadas por Harvey e Carolsfeld (1993), entre elas: dispensa a necessidade de tanques especiais para a desova, facilita o manejo dos ovos fertilizados, permite o manejo dos gametas para fins de melhoramento genético, utiliza mais eficientemente o sêmen quando este é escasso (através de diluição ou de preservação) e permite o cruzamento entre espécies e entre gêneros diferentes.

A técnica de desova por extrusão consiste na retirada das fêmeas imediatamente após a ovulação, quando os óvulos estão soltos na luz do ovário, e através de pressão abdominal induzir a saída dos óvulos pela papila genital. O mesmo procedimento é utilizado para a retirada do sêmen, sendo ambos os gametas recolhidos em recipientes para posterior mistura. É necessário determinar o momento exato da ovulação das fêmeas para garantir a obtenção de gametas de boa qualidade (Bromage *et al.*, 1994). A retirada dos óvulos antes ou depois de determinado tempo da ovulação pode comprometer a qualidade das larvas e proporcionar baixas taxas de fertilização (Hirose *et al.*, 1977).

As células espermáticas permanecem imóveis no testículo dos peixes devido à elevada concentração de potássio, de forma que, imediatamente após entrarem em contato com a água o potássio é diluído e as células são ativadas.

A motilidade do sêmen varia entre as diferentes espécies de peixes, porém, geralmente, é inferior a um minuto (Harvey e Carolsfeld, 1993). De modo semelhante, os óvulos de diferentes espécies são ativados pelo contato com a água, devendo ser fertilizados imediatamente. Considerando as características fisiológicas dos gametas, a fertilização a seco é o melhor método, onde óvulos e espermatozoides são retirados dos peixes, sem contato com a água, misturados e somente depois adicionada a água.

O procedimento de fertilização a seco possibilita a vantagem de ampliar o tempo para o manejo dos gametas, permitindo assim, a separação e a quantificação da desova nas porções a serem estocadas em distintas incubadoras, além de aumentar a taxa de fertilização.

Após a mistura dos óvulos com o sêmen, se procede a inclusão de água para ativação dos gametas, porém, a quantidade a ser adicionada precisa ser bem dimensionada. A inclusão de muita água causa a diluição do sêmen, e a diminuição da possibilidade de que encontrem a micrópila para a fertilização, da mesma forma que a quantidade insuficiente pode causar a obstrução da micrópila pelo muco do ovário ou pelo contato de outro óvulo (Woynarovich e Horváth, 1983).

Trabalhos realizados com dourado (*Salminus brasiliensis*) têm demonstrado que a utilização do procedimento convencional de fertilização produz baixa taxa de fecundação, sendo recomendado um maior volume da água de ativação – entre três a cinco vezes o volume de ovócitos – e decorridos 30 a 40 segundos do início da mistura deve ser adicionado um volume aproximado de cinco vezes o volume inicial para garantir uma elevada taxa de fecundação (Weingartner e Zaniboni Filho, 2005).

O desenvolvimento do conhecimento para a indução à desova de peixes migradores brasileiros se encontra bastante avançado, não sendo o entrave para a produção maciça de alevinos da grande maioria destas espécies.

### **Referências**

- Bagenal T. *Methods for assessment of fish production in freshwaters*. Oxford: Blackwell Bayley, 1978.  
Behr ER, Baldisserotto B, Garcia-Parra W, Brandão DA, Herke Z. Urophysial and pituitary extracts for

spawning induction in teleosts. *Ci Rur*, v.30, p.897-898, 2000.

**Bernardinno G, Ferrari VA.** *Indução para ovulação de tambaqui Colossoma macropomum, usando dois análogos de LHRH-a. Síntese dos trabalhos realizados com espécie do gênero Colossoma.* Pirassununga, SP: CEPTA, 1987.

**Bromage N, Bruce M, Basavaraja N, Rana K.** Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic Halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *J World Aquacult Soc*, v.25, p.13-21, 1994.

**Bruzska E** The *in vivo* method of estimating the stages of oocyte maturation in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Hydrobiol*, v.21, p.423-433, 1979.

**Carolsfeld J.** Reproductive physiology and induced breeding of fish as related to culture of Colossomas. In: Hernandez A. *Cultivo de Colossoma*. Bogotá: Editora Guadalupe, 1989. p.37-73.

**Carolsfeld J, Ramos SM, Ormanezi R, Gomes JH, Barbosa JM, Harvey B.** Analysis of protocols for application of an LHRH analog for induced final maturation and ovulation of female pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). *Aquaculture*, v.74, p.49-55, 1988.

**Curry MX, Tsukamoto RY.** A utilização de LHRH-a (Gonadorrelina) na reprodução induzida do pacu, *Colossoma mitrei* em condições de campo. In: Poli CR, Souza DO, Piccinin IS, Nascimento PAM, Rodrigues JBR. (Ed.). *Memórias do Simpósio Latinoamericano de Acuicultura*, 6, 1988, Florianópolis, SC. Florianópolis: [s.n.], 1988. p.174. Resumo

**Donaldson EM, Hunter GM.** Induced final maturation, ovulation, and spermiation. In: W.S. Hoar; D.J. Randall; E.M. Donaldson, editors. *Fish physiology*. New York: Academic Press, 1983. v.9, pt.B, p.351-403.

**Eckman R.** Induced reproduction in *Brycon* cf. *erythropterus*. *Aquaculture*, v.38, p.379-382, 1984.

**Godinho HP, Godinho AL.** Induced spawning of the pacu, *Colossoma mitrei* (Berg, 1895), by hypophysation with crude carp pituitary extract. *Aquaculture*, v.55, p.69-73, 1986.

**Harvey B, Carolsfeld J.** *Induced breeding in tropical fish culture*. Ottawa: IDRC, 1993. p.144.

**Hirose K, Ishida R, Sakai K.** Induced ovulation of ayu using HCG, with special reference to changes in several characteristics of eggs retained in the body cavity after ovulation. *Bull Jap Soc Sci Fish*, v.43, p.409-416, 1977.

**Houssay BA.** Acción sexual de la hipófisis en los peces y reptiles. *Rev Soc Arg Biol*, v.6, p.686-688, 1930.

**Huet M.** *Tratado de piscicultura*. Madri: Mundi-Prensa, 1978.

**Ihering RV.** Die wirkung von Hypophyseinjektion auf den Laichakt von Fischen. *Zool Anz*, v.111, p.273-279, 1935.

**Kirschbaum F.** Reproduction of weakly electric teleosts: just another example of convergent development. *Environm Biol Fish*, v.10, p.3-14, 1984.

**Kossowski C, Prada N, Bermudez D, Madrid F.** Reporte sobre reproducciones espontáneas en cautiverio de cachama, *Colossoma macropomum* en la estación de piscicultura de la UCLA. In: *Memorias de la Convención Venezolana para el Avance de la Ciencia*. Valencia, Venezuela: [s.n.], 1986. p.36.

**Kuo CM, Nash CE.** Recent progress on the control of ovarian development and induced spawning of the grey mullet (*Mugil cephalus* L.). *Aquaculture* v.5, p.19-29, 1975.

**Le Cren ED.** The length-weight relationship and seasonal cycle in gonadal weight condition in the perch *Perca fluviatilis*. *J Anim Ecol*, v.20, p.201-219, 1951.

**Lowe-McConnel RH.** *Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais*. São Paulo: EDUSP, 1999.

**Méndez A, Rodriguez JA.** Reproducción inducida en cachama (*Piaractus brachypomus* Cuvier) con buserrelina (Conceptal). *Siall*, v.6, p.7-11, 1989.

**Morais Filho MB, Schubart O.** *Contribuição ao estudo do dourado (Salminus maxillosus Val.) do rio Mogi Guassu (Pisces, Characidae)*. São Paulo: EGRT-Ministério da Agricultura-Divisão de Caça e Pesca, 1955.

**Nwadu kwé FO.** Inducing oocyte maturation, ovulation and spawning in the African catfish, *Hetrobranchus longifilis* Valenciennes (Pisces: Claridae), using frog pituitary extract. *Aquacult Fish Man*, v.24, p.625-630, 1993.

**Peter RE.** The brain and neurohormones in teleost reproduction. In: Hoar WS, Ran DJ, Donaldson EM (Ed.), *Fish physiology*. New York: Academic Press, 1983. v.9, pt.A, p.97-136.

**Pinto MLG, Castagnolli N.** Desenvolvimento inicial do pacu (*Colossoma mitrei* Berg, 1895). In: Verani JR, Godinho HM, Basile-Martins MA, Resende EK, Foresti F (Ed.). *Anais do Simpósio Brasileiro de Aquicultura 3*, São Carlos, SP. São Carlos: [s.n.], 1984. p.523-535.

**Powell JFF, Standen EM, Carolsfeld J, Borella MI, Gazola R, Fischer WH, Park M, Craig AG, Warby CM, Rivier JE, Val-Sella MV, Sherwood NM.** Primary structure of three forms of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) from pacu brain. *Regul. Pept*, v.68, p.189-195, 1997.

**Ramos RO, Ramos SM, Mendonça JOJ.** Utilização de análogos do LHRH na indução do matrinchã, *Brycon cephalus*. *Bol Téc CEPTA*, v.10, p.1-7, 1997.

**Ribeiro MCLB.** *As migrações dos jaraquis (Pisces, Prochilodontidae) no Rio Negro, Amazonas, Brasil*. 1983. 192f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 1983.

**Rizzo E, Godinho HP, Sato Y.** Short-term storage of oocytes from the neotropical teleost fish *Prochilodus*



*marggravii*. *Theriogenology*, v.60, p.1059-1070, 2003.

**Romagosa E, Paiva P, Godinho HM.** Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 = (*Colossoma mitrei* Berg, 1895), induced to spawn. *Aquaculture*, v.86, p.105-110, 1990.

**Sato Y.** *Reprodução de peixes da bacia do Rio São Francisco: indução e caracterização de padrões*. 1999. 179f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1999.

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

**Valencia Ramos O, Muñoz OC, Fadul EM.** Aplicaciones hormonales para la reproducción artificial de la cachama negra (*Colossoma macropomum*) (Cuvier, 1818) y cachama blanca (*Colossoma bidens*) (Spix, 1829). *Rev Latinoam Acuicult*, v.28, p.21-28, 1986.

**Vazzoler AEAM.** *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: EDUEM, 1996.

**Weingartner M, Zaniboni-Filho E.** Dourado In: Baldisserotto B, Gomes LC. *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria, RS: Ed. UFSM, 2005. p.257-286.

**Woynarovich E.** *Tambaqui e pirapitinga – Propagação artificial e produção de alevinos*. Brasília, DF: CODEVASF, 1986.

**Woynarovich E, Horváth L.** *A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão*. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1983.

**Zaniboni-Filho E.** *Biologia da reprodução do matrinxã, Brycon cephalus (Gunther, 1869) (Teleostei: Characidae)* 1985. 134f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 1985.

**Zaniboni-Filho E.** Utilização do LHRH-a para a indução à espermição e desova do pacu-caranha *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Biotemas*, v.8, p.36-45, 1995.

**Zaniboni-Filho E, Barbosa NDC.** Priming hormone administration to induce spawning of some Brazilian migratory fish. *Rev Bras Biol*, v.56, p.655-659, 1996.

**Zaniboni-Filho E, Nuñez APO.** Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. In: Cyrino JEP, Urbinati EC, Fracalossi DM, Castagnolli N. *Tópicos especiais em piscicultura de água doce*. São Paulo, SP: TecArt, 2004. p.45-73.

**Zohar Y.** Endocrinology and fish farming: aspects in reproduction, growth, and smoltification. *Fish Physiol Biochem*, v.7, p.395-405, 1989.

---