

Utilização de hormônios na reprodução induzida do surubim (*Pseudoplatystoma spp*) *Hormone utilization in the Spotted Brazilian catfish (*Pseudoplatystoma spp*) reproduction*

Daniel V. Crepaldi^{1,6}, Paulo M.C. Faria², Edgar de A. Teixeira³, Lincoln P. Ribeiro⁴, Ângelo Augusto P. Costa⁵, Daniela Chemim de Melo¹, Anna Paula R. Cintra⁵, Samuel de A. Prado⁵, Frederico A. A. Costa⁵, Mariana Lamounier Drumond⁵, Vando E. Lopes⁵, Vinícius E. de Moraes⁵

¹Doutorando em Zootecnia, Departamento de Zootecnia - Escola de Veterinária, UFMG - Belo Horizonte, MG, Brasil, ²Mestrando em Zootecnia, Departamento de Zootecnia - Escola de Veterinária, UFMG, ³Professor substituto, Departamento de Zootecnia - Escola de Veterinária, UFMG, ⁴Professor adjunto - Departamento de Zootecnia - Escola de Veterinária, UFMG, ⁵Graduando em Medicina Veterinária - Escola de Veterinária, UFMG
⁶Correspondência: danielcrepaldi@hotmail.com

Resumo

Um dos grandes entraves para a produção comercial de surubim é o fato de o mesmo não se reproduzir naturalmente em cativeiro. Diversos trabalhos demonstraram a possibilidade de reprodução por meio de técnicas de indução artificial à desova, o que já vem sendo utilizado com sucesso pelos produtores. A aplicação da técnica de hipofiseação é realizada rotineiramente na reprodução do surubim, porém ainda esbarra em alguns entraves, como o alto custo e taxa de resposta positiva variável. Este artigo visa discutir diversas pesquisas que estão sendo realizadas, demonstrando a possibilidade de melhora dos índices reprodutivos nessa espécie por meio da utilização de outras técnicas ou de ajustes nos protocolos já empregados.

Palavras-chave: reprodução, surubim, hormônios.

Abstract

Natural reproduction of surubim under farming management do not occur efficiently. Scientists demonstrated that there is a possibility of improving reproduction efficiency under farming management systems using assisted reproduction techniques. Currently the only technique used with relative success in commercial productions is the induction of spawning through the use of pituitary injection. However, it has been showed that other techniques resulted in success. This article has the aim to show what is currently being done in this area of research, trying to focus in achieved improvements in the reproductive efficiency of surubim using new approaches or improving already known protocols.

Keywords: reproduction, surubim, Spotted catfish, hormone.

Introdução

A reprodução é quase sempre um fenômeno sazonal ou cíclico. As zonas temperadas e frias são caracterizadas por um ciclo anual de temperaturas e fotoperíodo; nos trópicos, os habitats de água doce podem ser alternados marcadamente pelas estações chuvosas.

O sistema endócrino está diretamente relacionado com fatores ambientais e a atividade dos órgãos da reprodução. Trocas nas condições ambientais, atuando por meio do sistema sensorial e dos centros específicos do cérebro, desencadeiam neurosecreções as quais regulam as atividades da hipófise, que por sua vez, atua sobre as gônadas e seus produtos.

Grande parte dos peixes mantidos em condições de confinamento tendem a apresentar disfunções reprodutivas. Nas fêmeas, essas falhas são caracterizadas por problemas na maturação final dos ovócitos, ovulação e na ovoposição. Já nos machos, a pequena quantidade de sêmem e sua baixa qualidade são os achados mais comuns.

Cerca de 13% dos peixes da Bacia do São Francisco têm valor comercial, sendo que 80% desses não conseguem reproduzir-se naturalmente em condições de cativeiro, o que ressalta a importância de trabalhos com indução artificial à desova. Assim, torna-se necessário o domínio na manipulação da atividade reprodutiva, possibilitando a produção de alevinos dessas espécies. Isso contribuiria para a conservação e impulsionaria o cultivo (Sato *et al.*, 2003), o que de certa forma reduziria a pressão sobre os estoques naturais.

O surubim, assim como diversas outras espécies utilizadas na aquacultura, não se reproduz naturalmente quando confinado. Isso ocorre devido à falta de estímulos do ambiente natural na época da reprodução nos peixes mantidos em cativeiro. Como resultado, ocorrem falhas no processo de liberação da gonadotropina, responsável pela maturação final, o hormônio luteinizante (LH) (Zohar e Mylonas, 2001). Porém, o surubim, apresenta boa resposta a técnicas de indução hormonal. Essas técnicas já foram testadas em diversos peixes da Bacia (Sato, 1989), sendo empregadas com sucesso em cerca de 25 dessas (Sato *et al.*, 2003).

No cultivo de surubim, a maturação final dos ovócitos tem sido feita pelo uso de hormônios (naturais ou sintéticos), processo rotineiramente chamado de reprodução induzida. O sucesso dessa prática mostrou que os controles endócrino e metabólico são os principais reguladores endógenos da etapa de ovogênese e, por conseguinte, os estudos concentraram-se em sua maioria sobre esses enfoques (Lam, 1982; Nagahama, 1983).

A aplicação das técnicas convencionais de indução hormonal é indicada para peixes no final da vitelogênese. Nessa fase, a vitelogênese está completa nos ovócitos, sendo necessária a indução hormonal a fim de garantir a maturação final e a desova. Essa etapa final consiste basicamente na migração e a posterior desintegração da vesícula germinal, com o rompimento do envelope folicular e a consequente liberação dos ovócitos na luz do ovário. 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 de células espermáticas (Zaniboni Filho e Weingartner, 2007).

Apesar de o Brasil ter sido pioneiro na desova induzida, são poucos os peixes que têm um pacote tecnológico definido baseado em parâmetros confiáveis de serem ajustados de acordo com suas diferentes características. Segundo Sato (1999), quando se determina o protocolo ideal de certa espécie, esses mesmos dados podem ser aplicados em outros peixes pertencentes ao mesmo gênero ou mesmo de grupos mais elevados. Como exemplo, cita-se o trabalho desenvolvido de Estação de Hidrobiologia e Piscicultura de Três Marias onde a desova induzida do surubim só foi concretizada após o estabelecimento da desova artificial de *Pimelodus maculatus*, ambos da família Pimelodidae.

Hipofisacão

A técnica de indução artificial utilizada rotineiramente na reprodução de surubim é chamada de hipofisacão. Consiste na administração de extrato hipofisário de peixe, geralmente de carpa comum (*Cyprinus carpio*), injetado na cavidade celomática ou via intramuscular nos reprodutores, em duas aplicações. Essa técnica age diretamente na meiose, promovendo a maturação final do ovócito (von Ihering e Azevedo, 1936). O tempo entre as aplicações do extrato de hipófise e a dosagem hormonal distribuída entre as doses vem sendo bastante estudado, uma vez que tais variáveis podem mudar de acordo a exigência de cada espécie.

Nas fêmeas de surubim, geralmente, emprega-se a administração de duas doses do hormônio com intervalo aproximado de 12 a 13 horas entre as aplicações, com a água em uma temperatura entre 23,5 a 25°C. A primeira dose (0,8 mg/kg) serve para estimular a migração da vesícula germinal, e a segunda (6,1 mg/kg), para induzir a quebra dessa vesícula, ovulação e desova (Woynarovich e Horváth, 1983). Já para os machos, é utilizada a administração de dose hormonal única (2,5-3,0 mg/kg), aplicada no mesmo momento da segunda dose das fêmeas. Seguindo esse protocolo, os reprodutores deverão estar aptos à extrusão em aproximadamente 226 horas-grau ou 9,3 horas (Sato, 2003). O termo “horas-grau” refere-se ao tempo (horas) multiplicado pela temperatura da água (C°), sendo que cada espécie de peixe apresenta necessidades diferentes para essa medida.

O total de ovócitos extruídos deverão representar cerca de 5% do peso corporal das fêmeas (Sato *et al.*, 2003). Os valores de percentagem de ovócitos extruídos por fêmea, assim como a fertilização e a fecundidade dos mesmos, podem ser variáveis de acordo com a classe de peso estudada.

A técnica de hipofisacão apresenta uma série de entraves, tais como: desconhecimento do conteúdo de gonadotropina das hipófises, uma vez que se trabalha com números ou peso das hipófises e não sua atividade hormonal; não padronização do material empregado; dificuldade em obtenção de glândulas em quantidade e qualidade satisfatória durante todo o ano, alto custo, dificuldade na determinação exata do momento do início do protocolo de indução, o qual depende do estágio de maturação gonadal.

As taxas de resposta positiva à hipofisacão variam de 60 a 100%. Na Estação de Hidrobiologia e Piscicultura de Três Marias, entre os anos de 1995 e 1998, foram induzidos 12 machos e 18 fêmeas de surubim, obtendo-se uma resposta à hipofisacão de 66,7%. A percentagem de ovócitos residuais (retidos no ovário em relação aos extraídos, após a desova) foi de $36,04 \pm 14,67$ (Sato, 1999). Já Sato *et al.*, (2003) encontraram uma taxa positiva de apenas 58,3%. Tais números podem demonstrar a possibilidade de melhora dos índices reprodutivos nessa espécie a partir de ajustes nos protocolos de identificação do estágio de maturação e, conseqüentemente, no momento de administração hormonal.

Outras técnicas

Pelos motivos citados anteriormente, diversos autores têm proposto e conseguido a substituição da hipofisacão por outras técnicas (Lam, 1982; Goos *et al.*, 1987). A procura de novas alternativas para obtenção de desovas em peixes tropicais conduziu à busca por produtos sintéticos, como às gonadotrofinas, levando ao desenvolvimento de técnicas que possibilitem a indução à maturação final, à ovulação e à espermiacão de maneira mais eficiente e custo-efetiva (Leonardo, 2003).

Dentre as várias possibilidades, utiliza-se gonadotropina parcial ou totalmente purificada de peixes. Essa foi obtida pela primeira vez em 1970, tornando-se possível a utilização 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 por meio 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).

Segundo Carrillo *et al.* (2001), as gonadotropinas (GtH) são hormônios glicoproteicos de origem hipofisária e placentária (mamíferos) que estimulam o desenvolvimento das gônadas. A hipófise dos teleosteos secreta duas classes de gonadotrofinas: a GtH-I (vitelogênese e da espermogênese) e a GtH-II (maturação final dos ovócitos e da ovulação), sendo o principal responsável pela secreção e liberação de ambas o GnRH (Leonardo, 2003).

A gonadotropina purificada de origem humana (HCG) também foi testada em surubim, mostrando-se um potente indutor da ovulação, apesar de não estimular todas as espécies de peixes. A grande diferença na estrutura molecular da HCG, comparada com a gonadotropina de peixes, exige a aplicação de elevadas doses para estimular a maturação final de peixes, tornando o processo economicamente proibitivo (Harvey e Carolsfeld, 1993). Leonardo (2003) comparou o extrato de hipófise de carpa (HC), o HCG e o conjugado entre as duas substâncias na indução hormonal de cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), verificando que o HCG foi mais eficaz em relação ao HC na indução à desova e que a combinação de HC + HCG não foi adequada a esse peixe.

A utilização dos hormônios liberadores de gonadotropinas (GnRH) para a indução à desova de peixes vem sendo empregada com sucesso desde 1975 (Donaldson e Hunter, 1983), podendo ter uma boa possibilidade para a reprodução do surubim. Trata-se de uma molécula pequena e simples, dando oportunidade para a alteração da estrutura molecular e a síntese de análogos, possibilitando a produção de hormônios 50 a 100 vezes mais potentes (Harvey e Carolsfeld, 1993).

Destaca-se o emprego do GnRH em duas de suas fórmulas mais comuns, a do análogo de mamífero: D-Ala⁶-Pro⁹-mLHRH-NET e a do de salmão: [D-Arg⁶, Pro⁹ Net] sGnRH, tendo esta última maior atividade. A dosagem dos análogos de GnRH recomendada para indução à desova de peixes é igualmente variável, tendo sido efetiva entre 1 e 100 µg/kg, embora o setor produtivo utilize valores entre 5 e 20 µg/kg (Harvey e Carolsfeld, 1993). Mugnier *et al.* (2000) usaram o análogo (GnRH-a), [d-Ala⁶-Pro⁹-Net] em *Scophthalmus maximus*, comprovando a eficácia desse hormônio na sincronização do período de desova que ficou restrito à metade do período controle, além de aumento significativo no número de fêmeas que ovularam.

Três grandes vantagens dos hormônios liberadores de gonadotropina são verificadas na indução à maturação final e à 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 à 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). No caso da utilização desses hormônios em fêmeas de surubim, a grande desvantagem seria o tempo prolongado para ovulação, como observado por Brzuska (2001) em siluriformes. Devido a tais inconvenientes, produtores e pesquisadores têm sido relutantes na aplicação dos análogos.

Entretanto, a administração de substâncias compostas (Ovaprim, Dagin, Ovopel e Aquaspawn, Ovudal) contendo GnRH-a e um inibidor da dopamina (metaclopramida) tem contribuído para a retomada do uso de produtos com esses análogos, uma vez que elas possibilitam a administração da dose exata sem a necessidade de se pesar a solução. É um método simples e rápido de preparo e armazenamento e elimina uma injeção extra de inibidores da dopamina (Kucharczyk e Szabó, 1998). Bruska e Bialowas (2002) compararam o uso de Ovopel e extrato de hipófise na reprodução de *Cyprinus carpio*, verificando que o grupo de peixes tratados com a substância composta apresentou maior número de fêmeas desovadas e ovos de melhor qualidade. A comparação entre o extrato hipofisário e o composto também foi efetuada para fêmeas de *Silurus glanis*, comprovando que o grupo que utilizou o Ovopel na reprodução apresentou maior número de fêmeas aptas à desova, além de maior sobrevivência de larvas Bruska (2001). Perez *et al.* (2001) utilizaram o análogo "Ovudal" na indução reprodutiva de *P. fasciatum* na dosagem de 10 mg/kg para fêmeas e 1 mg/kg para os machos, comprovando a eficácia e a possibilidade de emprego de tal produto para essa espécie. O Ovudal é um análogo artificial do LHRH contendo a D-alanina na posição 6.

Um outro análogo do GnRH, a busserelina, vem sendo utilizado com sucesso para a indução de peixes. O acetato de busserelin (Conceptal[®]) foi testado no Brasil nos trabalhos pioneiros com GnRH desenvolvidos no Centro de Pesquisa e Treinamento em Aqüicultura - CEPTA com o pacu *Piaractus mesopotamius* por (Ribeiro *et al.*, 1986; Carolsfeld *et al.*, 1988; Lima *et al.*, 1988).

É importante salientar que, seja qual for o protocolo utilizado na indução artificial à desova, a determinação do melhor momento para se iniciar o procedimento é fundamental para o sucesso reprodutivo.

Implicações econômicas

Carolsfeld *et al.* (1988) efetuaram um estudo econômico comparativo com diversas substâncias usadas na reprodução induzida de peixes, mostrando que a associação de GnRH com domperidona tinha um custo de R\$

2,48 por quilo de animal tratado, enquanto a hipofisacção saía por R\$ 4,43, chegando a atingir R\$ 248,00 para o GtH de salmão purificado. Esses dados corroboram os mostrados por Thomas e Boyd (1989).

Os elevados preços das hipófises de carpa e de salmão, nos mercados nacional e internacional, estimularam a realização de trabalhos com hipófises de outros animais, obtendo-se sucesso com utilização de frango, pato, rã e coelho (Nwadukwe, 1993; Streit Jr, 2002). Souza *et al.* (2003) compararam a utilização de hipófises de frango (EHF), de coelho (EHCo) e de carpa (EHC) na indução de *Cyprinus carpio*. Avaliaram-se o volume médio de sêmen, a concentração de espermatozoides e o número total de espermatozoides liberados no sêmen. Constatou-se que, para esses índices, os machos tratados com EHF e EHC ($p < 0,05$) foram superiores em relação ao EHCo. Não houve diferença ($p > 0,05$), porém, para a motilidade progressiva, o vigor espermático e a taxa de eclosão em função dos diferentes hormônios utilizados nos machos. Em fêmeas, as desovas, a unidade térmica acumulada, o número de ovócitos/g de ovócitos liberados e a taxa de eclosão de acordo com o hormônio utilizado na fêmea apresentaram melhor desempenho ao se utilizar EHF e EHC ($p < 0,05$), comparado com EHCo. De acordo com os resultados encontrados, sugeriu-se a possível utilização do EHF para indução de machos e novas pesquisas em relação às fêmeas, sendo que o EHCo não promoveu estimulação satisfatória em machos e fêmeas.

Extrusão, fertilização e algumas características reprodutivas do surubim

Os ovócitos extrusados são depositados em um recipiente, colocando-se o sêmen sobre os mesmos e misturando suavemente. Todo processo é efetuado sem a adição de água.

Sato *et al.* (2003), observaram que os ovócitos extrusados representavam 3,83% do peso das fêmeas, verificando ainda cerca de 1,27% do peso desses animais em ovócitos residuais, o que representa aproximadamente 36,04% de ovócitos retidos no ovário em relação aos extrusados. O número médio de ovócitos por grama de ovário foi de 2468 ± 82 .

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 (Zaniboni Filho e Weingartner, 2007). Após a homogeneização da massa de ovócitos e sêmen, adiciona-se a água, o que promove a ativação dos espermatozoides e conseqüente fertilização dos óvulos.

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. Devido a isso, a fertilização a seco é também o método de escolha para surubim, por meio do qual óvulos e espermatozoides são retirados dos peixes, sem contato com a água, misturados e somente depois esta é adicionada. 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 (Zaniboni Filho e Weingartner, 2007). Após a mistura dos óvulos com o sêmen, procede-se à 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).

O diâmetro do ovócito antes e após sua hidratação varia de 0,8 a 1,3 mm. Após esse processo, os óvulos são colocados nas incubadoras com uma temperatura da água em torno de 23,5 a 25 °C (Cardoso *et al.*, 1995). Sato *et al.* (2003) encontraram diâmetros de 1,03 a 1,5 mm para óvulos antes e após a hidratação, respectivamente, e taxas de fertilização de 79,53%.

Até então, as técnicas usualmente empregadas na identificação e seleção dos reprodutores aptos ao início do protocolo de indução se baseavam na visualização de caracteres externos como abaulamento da parede celomática e hiperemia e dilatação do poro urogenital (Fig. 1). Tais técnicas são subjetivas, podendo variar de acordo com as características de cada indivíduo bem como acarretar uma menor eficiência em programas de desova induzida.

Mais recentemente, vem sendo utilizada a análise do fator de condição relativo (Kn), considerado como o consciente entre o peso observado e o peso teoricamente esperado para um dado comprimento ($Kn = Wt/aL^b$). Tal análise já foi aplicada para a seleção de reprodutores de peixes de clima tropical (Eckmann, 1984; Sato *et al.* 2003).

Os siluriformes, em cativeiro, não sinalizam o momento da desova (Sato, 1999) e não completam a maturação final dos ovócitos, o que prejudica a decisão de quando começar o protocolo de indução hormonal. Esse fato indica a importância da execução de pesquisas nessa área, visando ao sucesso na criação comercial dessas espécies.



Figura 1. Poro urogenital hiperêmico.

Considerações finais

O surubim demonstra ter boas respostas às técnicas de reprodução induzida pesquisadas. A hipofiseação tem resultados já testados e aprovados por produtores, porém seus altos custos e resultados variáveis estimulam a tentativa de utilização de outras substâncias. A gonadotropina purificada de salmão também apresentou custos elevados, já a gonadotropina purificada de origem humana (HCG) obteve resultados mais eficientes na indução de ovulação do que o extrato de hipófise em cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*). Outra possibilidade são os extratos de hipófise de frango, tendo menor custo do que os de carpa atualmente utilizados na técnica de hipofiseação, demonstrando bons resultados na indução de ovulação e espermição em carpas. Os análogos dos hormônios liberadores de gonadotropina (GNRH) apresentam uma vantagem econômica, porém é necessário um maior tempo para que ocorra a ovulação em siluriformes, gerando relutância entre produtores e pesquisadores na aplicação desses análogos em surubim. Substâncias compostas, contendo GnRH-a e um inibidor da dopamina (metaclopramida), também obtiveram bons resultados em pesquisas, sendo mais eficientes do que o extrato de hipófise em diversos estudos, inclusive na indução reprodutiva de *P. fasciatum*, comprovando a eficácia e a possibilidade de emprego de tal produto para essa espécie.

Referências

- Brzuska E.** Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.: differences between propagation results after stimulation of ovulation with carp pituitary and Ovopel. *Aquacult Res*, v.32, p.11-19, 2001.
- Brzuska E, Bialowas H.** Artificial spawning of carp *Cyprinus carpio*. *Aquacult Res*, v.33, p.753-765, 2002.
- Cardoso EL, Alves MSD, Ferreira RMA, Godinho HP.** Embryogenesis of the neotropical freshwater Siluriforme *Pseudoplatystoma coruscans*. *Aquat Living Resour*, v.8, p.243-246, 1995.
- Carosfeld J, Ramos SM, Ormanezi R, Gomes, JH, Barbosa, JM, Harvey, B.** Analysis of protocols for application of LHRH analog for induced final maturation and ovulation of female pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887). *Aquaculture*, v.74, p.41-8, 1988.
- Carrillo MA, Rodriguez H, Victoria P.** Fundamentos da acuicultura continental. 2.ed. Bogotá: INPA, 2001. 423p.
- Donaldson EM, Hunter GM.** Induced final maturation, ovulation, and spermiation. In: Hoar WS; Randall DJ, Donaldson EM (Ed.). *Fish physiology*. New York: Academic Press, 1983. v.9, p.351-403.
- Eckman R.** Induced reproduction in *Brycon cf. erythropterus*. *Aquaculture*, v.38, p.379-382, 1984.
- Lima JAF, Carosfeld J, Ramos SM, Alcantara RCG, Ramos RO.** Uso de "Ovaprin" [Combinação de um antagonista da dopamina (domperidona) mais um análogo do hormônio liberador de gonadotropina de salmão (sGnRH-A na indução de desova do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criado em cativeiro.] *Bol Téc CEPTA*, v.1, p.1-9, 1988.
- Goos HJTh, Joy KP, de Leeuw R, Van Oordt PGWJ, Van Delft AML, Gielen JT.** The effect of luteinizing hormone - releasing hormone analogue (LHRHa) in combination with different drugs with anti-dopamine and anti-serotonin properties on gonadotropin release and ovulation in the african catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, v.63, p.143-156, 1987.
- Harvey B, Carolsfeld J.** *Induced breeding in tropical fish culture*. Ottawa: IDRC, 1993. p.144.



- Kucharczyk D, Szaboâ T.** Ovopel: new hormonal substance for stimulating of reproduction in Cyprinidae. *In:* Polish Conference of Breeders and Producers of Rheophilic Cyprinid Fish, 1, 1998, Brwinów. *Proceedings ...* Brwinów: [s.n.], 1998. p.65-68.
- Lam TJ.** Applications of endocrinology to fish culture. *Can J Fish Aquat Sci*, v.39, p.111-137, 1982.
- Leonardo AFG.** *Indução à maturação final, ovulação e fertilização do cachara, Pseudoplatystoma fasciatum, em cativo.* 2003. 41p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura.) - Centro de Aqüicultura da UNESP, Jaboticabal, 2003.
- Mugnier C, Guennoc M, Lebegue E, Fostier A, Breton B.** Induction and synchronization of spawning in cultivated turbot (*Scophthalmus maximus* L.) broodstock by implantation of a sustained-release GnRH-a pellet. *Aquaculture*. v.18, p.241-255, 2000.
- Nagahama Y.** The functional morphology of teleosts gonads. *In:* Hoar WS, Randall DJ, Donaldson E M, (Ed.). *Fish physiology*. London: Academic Press, 1983. v.9A, p.223-264.
- Nwaduikwe FO.** Inducing oocyte maturation, ovulation and spawning in the African catfish, *Hetrobranchus longifilis* Valenciennes (Pisces: Claridae), using frog pituitary extract. *Aquacult Fish Manag*, v.24, p.625-630, 1993.
- Pérez PPP, Bocanegra FA, Orb RI.** Reproducción inducida de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* y desarrollo embrionario-larval. *Fol Amaz*. v.12, p.141-154, 2001.
- Ribeiro LP, Bernardino G, Mendonça JOJ.** Ovulação induzida do pacu, *Colossoma mitrei*, com hormônio liberador de gonadotropina. *In:* Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, 4, 1986, Cuiabá. *Anais ...* Cuiabá: Associação Brasileira de Aqüicultura, 1986. p.27-32.
- Sato Y.** Reprodução artificial de peixes na bacia do rio São Francisco. *In:* Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 8, 1989, Belo Horizonte, MG. *Palestras ...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1989. p.56-61.
- Sato Y.** *Reprodução de peixes da bacia do rio São Francisco: Indução e caracterização de padrões.* 1999. 179f. Tese (Doutorado) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 1999.
- Sato Y, Fenerich-Verani N, Godinho HP.** Reprodução induzida de peixes da Bacia do São Francisco. *In:* Godinho HP, Godinho AL (Org.). *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais.* Belo Horizonte: PUC Minas, p.274-290, 2003.
- Souza ED, Streit Jr DP, Moraes GV, Ricardo PR, Povh JA, Cardozo RM, Lupchinski Jr. E, Sakaguti ES, Mendez LDV.** Extratos de hipófise de frango e coelho na indução reprodutiva da carpa comum (*Cyprinus carpio*). *Acta Sci Anim Sci*, v.25, p.99-107, 2003.
- 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.
- Thomas P, Boyd NW.** Dietary administration of an LHRH analogue induces spawning of spotted sea trout (*Cynoscion nebulosus*). *Aquaculture*, v.80, p.363-70, 1989.
- Von Ihering R, Azevedo PA.** desova e a hipofiseação dos peixes. Evolução de dois Nematognathas. *Arch Inst Biol*, v.7, p.107-18, 1936.
- Woynarovich E, Horváth L.** *A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão.* Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1983.
- Zaniboni-Filho E, Weingartner M.** Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. *Rev Bras Reprod Anim*, v.31, p.367-373, 2007.
- Zohar Y, Mylonas CC.** Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, v.197, p.99-136, 2001.

Agradecimentos

Apoio financeiro da SEAP/PR.
