



## Indutores hormonais na reprodução artificial de curimba (*Prochilodus lineatus*)

*Inducing hormone in artificial reproduction curimba (Prochilodus lineatus)*

E.S. Andrade<sup>1</sup>, A.F.S. Carvalho<sup>1</sup>, M.R. Ferreira<sup>1</sup>, F.G. Paula<sup>2</sup>, F.S. Rodrigues<sup>2</sup>,  
V.O. Felizardo<sup>1,4</sup>, R.V. Reis Neto<sup>3</sup>, L.D.S. Murgas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

<sup>4</sup>Correspondência: viviofbio@yahoo.com.br

### Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes indutores hormonais na reprodução artificial de fêmeas e machos de curimba *Prochilodus lineatus*. Os machos (n = 30) e as fêmeas (n = 30) receberam duas aplicações de hormônio intramuscular. Os tratamentos foram: EBHC – extrato bruto de hipófise de carpa (0,5 e 5,0 mg/kg), G – gonadorelina (60 e 60 µg/kg) e A – acetato de buserelina (0,25 e 0,5 mL/kg). Realizou-se coleta de sangue antes da aplicação hormonal e após a desova para se verificarem as concentrações hormonais de LH, FSH, estradiol e progesterona. A avaliação da eficácia dos tratamentos foi realizada considerando-se, nos machos, o volume seminal, a taxa da motilidade espermática, a morfologia e a concentração espermática. Nas fêmeas, foi verificado o percentual de desova, o peso da desova (g), o diâmetro dos ovócitos (µm) e a taxa de fertilização (%). Nos parâmetros analisados para as fêmeas, não foi observada diferença significativa (P > 0,05) nas variáveis: peso de desova e diâmetro de ovócitos. Foi observada taxa de fertilização somente para os tratamentos EBHC e G, sem haver distinção (P > 0,05) entre eles. As fêmeas e os machos de curimba não apresentaram diferença (P > 0,05) nas concentrações plasmáticas de LH, FSH e estradiol antes e após a aplicação hormonal. Em fêmeas, a concentração de progesterona foi maior (P < 0,05) antes da aplicação hormonal. A gonadorelina, nas condições aplicadas, pode ser utilizada como um hormônio alternativo à utilização do extrato bruto de hipófise de carpa na reprodução induzida de curimba.

**Palavras-chave:** acetato de buserelina, EBHC, fertilização, gonadorelina, reprodução induzida.

### Abstract

*This study aimed to evaluate the effect of different hormonal inducers on artificial breeding of females and males of curimba Prochilodus lineatus. Males (n = 30) and females (n = 30) received two intramuscular hormone applications. The treatments were: CCPE - crude carp pituitary extract (0.5 and 5.0 mg/kg), G - gonadorelin (60 and 60 µg/kg) and A - busserelina acetate (0.25 and 0.5 ml/kg). We conducted blood sampling before hormonal application and after spawning to check the hormone levels of LH, FSH, estradiol and progesterone. The efficacy of treatments was performed considering, in males, the seminal volume, the rate of sperm motility, morphology and sperm concentration. In females, it was found the percentage of spawning, spawning weight (g), oocyte diameter (µm) and fertilization rate (%). Spawning weight and diameter of oocytes no presented significant difference (P > 0.05). Fertilization rate was observed only for CCPE and G treatments did not differ (P > 0.05) between them. Females and males curimba are not different (P > 0.05) in plasma levels of LH, FSH and estradiol before and after hormone application. In females progesterone concentration was higher (P < 0.05) before application of hormone. The gonadorelin, under the conditions applied can be used as an alternative to hormone use crude carp pituitary extract on induced curimba reproduction.*

**Keywords:** busserelina acetate, CCPE, fertilization, gonadorelin, induced breeding.

### Introdução

As espécies de peixes migradoras, quando mantidas em cativeiro, não conseguem concluir seu processo reprodutivo, provavelmente em razão de restrições ambientais como fotoperíodo e temperatura (Mylonas et al., 2010).

Em fêmeas, esses fatores podem afetar o sistema fisiológico, suprimindo a ação dos hormônios indutores da desova e, assim, impedindo o processo da maturação final (Mylonas et al., 2010). Já em machos, ocorre uma reduzida capacidade de se realizar a espermatogênese e a espermição, levando tanto à baixa produção quanto à má qualidade de sêmen (Zoar e Mylonas, 2001).

Para superar tal problema, hormônios exógenos são comumente aplicados. A metodologia mais utilizada na reprodução induzida é a aplicação de EBHC (Mylonas et al., 2010), mas essa técnica apresenta algumas desvantagens, entre elas: custo elevado (Carneiro e Mikos, 2008), presença de outros hormônios, como o de crescimento e osmorreguladores, que causam elevado estresse nos indivíduos receptores, além da



possibilidade de transmissão de doenças (Mylonas et al., 2010).

Essas desvantagens justificam os estudos da utilização de substâncias alternativas sintéticas na reprodução induzida das espécies reofílicas, como os agonistas de GnRH e GnRH sintéticos (Murgas et al., 2007).

Esses compostos apresentam vantagens em relação às gonadotrofinas, tais como estimulação da maturação gonadal, incapacidade de desencadear resposta imune, melhora na integração com funções fisiológicas que afetam processos endócrinos e diminuição do risco de transmissão de doenças aos reprodutores (Zohar e Mylonas, 2001), aperfeiçoando, assim, os processos de indução e maturação final em peixes e minimizando os custos.

Entre os hormônios sintéticos existentes, a buserelina e a gonadorelina já foram utilizadas com sucesso na indução da reprodução de peixes como o pacu *Piaractus mesopotamius*, a curimba *Prochilodus lineatus* (Paulino et al., 2011) e o lambari *Astyanax bimaculatus* (Muniz et al., 2008; Felizardo et al., 2012).

A curimba (*Prochilodus lineatus*) é uma espécie de piracema, muito utilizada em sistemas de consórcio com outras espécies e em policultivos no sul do país e, por ser uma espécie reofílica, necessita de indução hormonal para se reproduzir em cativeiro (Freitas et al., 2002). Diante disso, este trabalho teve como objetivo verificar a eficiência dos indutores hormonais EBHC, gonadorelina e acetato de buserelina na reprodução assistida de *P. lineatus*, por meio da avaliação de parâmetros reprodutivos e da concentração sérica hormonal de machos e fêmeas.

### Material e Métodos

O experimento foi realizado em janeiro de 2012, no Setor de Piscicultura do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (DPA/EV/UFG), em Goiânia, GO.

Foram utilizados 30 machos e 30 fêmeas de curimba, com peso de  $552,19 \pm 247,66$  g, provenientes da estação de piscicultura do departamento, onde eram mantidos em viveiros de terra e alimentados com ração comercial para reprodutores com 32% de proteína bruta; 10% de extrato etéreo; 5% de fibrosa; 7% de cinza; 10% de cálcio e 1,2% de fósforo, fornecida duas vezes ao dia a 3% da biomassa.

O experimento foi realizado em dois dias distintos em razão a dificuldade de se trabalhar com um grande número de animais ao mesmo tempo, e foram utilizados 15 machos e 15 fêmeas por dia.

Para a indução à desova, somente peixes aparentemente aptos a receberem a indução hormonal foram utilizados. As fêmeas foram selecionadas por características morfológicas externas, como ventre abaulado, macio e papila urogenital saliente, e os machos pela fluidez de sêmen, por meio de massagem abdominal, realizada no sentido anteroposterior (Woyrnarovich e Horváth, 1989).

Após captura, os animais foram transportados do viveiro para o laboratório de reprodução de peixes da UFG em caixas de transporte com oxigenação constante. Em seguida, os animais foram pesados com a finalidade de se calcularem as doses hormonais a serem administradas, e transferidos para caixas d'água de polietileno de 1000 L (um peixe/250 L) a uma temperatura média de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ .

A indução hormonal foi realizada após jejum de 24 horas, mediante duas aplicações hormonais, via intramuscular (na base da nadadeira peitoral). A segunda aplicação hormonal ocorreu 12 horas após a primeira em ambos os sexos. Foram utilizados três tratamentos, para ambos os sexos, sendo: EBHC – 0,5 e 5,0 mg/kg de peixe (controle positivo); G (gonadorelina) – 60 e 60 µg/kg de peixe e A (acetato de buserelina) – 0,25 e 0,5 mL/kg de peixe. Foi utilizado um total de 10 animais por tratamento.

Antes da aplicação hormonal e no momento da extrusão dos gametas, foi realizada a coleta de sangue por punção da veia caudal, utilizando-se uma seringa de 1 mL heparinizada.

Logo após a coleta, o sangue foi centrifugado a 3.000 rpm por 15 minutos e o plasma foi armazenado a  $-80^\circ\text{C}$ , até a análise hormonal para mensuração sérica do hormônio luteinizante-LH, do hormônio folículo estimulante-FSH, da progesterona e do estradiol, com a utilização do *kit* Elisa.

A avaliação da eficácia dos tratamentos foi realizada considerando-se, nos machos, o volume seminal, a taxa da motilidade espermática, a morfologia e a concentração espermática. Para a avaliação da motilidade, o sêmen foi observado em microscópio de luz pré-focalizado (40 dioptrias) e ativado com água destilada, obedecendo à proporção de 1:4 (sêmen/água). A taxa de motilidade foi estimada subjetivamente (Felizardo et al., 2010).

Para avaliar a morfologia e a concentração espermática (espermatozoides/mL), foi realizada uma diluição de 10 µL de sêmen em 990 µL de solução de formol citrato (2,9 g de citrato de sódio, 4 mL de solução comercial de formaldeído 35% e água destilada q.s.p. 100 mL).

Na análise de morfologia espermática, foram contados 100 espermatozoides de cada animal, em lâminas previamente coradas com rosa bengala, utilizando-se o microscópio com aumento de 1000x. Anormalidades da cabeça, da peça intermediária e da cauda foram avaliadas no aumento de 1000x e classificadas em anormalidades primárias (cabeça degenerada, peça intermediária anormal, cauda quebrada, cauda enrolada, micro e macrocefalia) e secundárias (cabeça isolada, gota proximal e distal e cauda isolada), de acordo com Streit Jr. et al. (2006).



A concentração espermática foi estimada utilizando-se uma câmara de Neubauer, onde 10  $\mu$ L de sêmen diluído foram depositados (Felizardo et al., 2010), e foi verificada em microscópio com aumento de 100x.

Nas fêmeas, foram verificados o percentual de desova (número total de fêmeas que desovaram/número total de fêmeas que foram injetadas x 100), como descrito por Vazirzadeh et al. (2011), o peso da desova (g), o diâmetro dos ovócitos ( $\mu$ m) e a taxa de fertilização (%).

A medida de diâmetro foi realizada em 10 ovócitos de cada fêmea, previamente imersos em solução de Gilson (5 mL de álcool 60%, 44 de água destilada, 0,7 de ácido nítrico 80%, 1 g de cloreto de mercúrio e 0,9 mL de ácido acético glacial), e foi avaliada com auxílio de microscópio óptico.

Para verificar a taxa de fertilização, após a extrusão dos gametas os ovócitos foram homogeneizados junto ao sêmen, sem adição de água, na proporção de um macho/fêmea, decorrendo imediatamente a hidratação gradativa com água do tanque até a proporção de 1 mL:10 mL (sêmen/ovócitos:água), por cerca de dois minutos. A seguir, os ovos foram alocados em incubadoras, tipo funil, com capacidade de 200 L.

A taxa de fertilização foi avaliada conforme metodologia descrita por Paulino et al. (2011). Para tanto, amostras de 300 ovos na fase de fechamento de blastóporo foram retiradas das incubadoras, e a taxa de fertilização foi calculada utilizando a seguinte forma:

TF:  $(E \times 100) / (E + i)$ , em que E = total de embriões viáveis e i = total de embriões não viáveis.

O delineamento experimental para as análises das variáveis reprodutivas de fêmeas e machos foi em blocos ao acaso, subdivididos no tempo com três tratamentos: indução com EBHC, acetato de buserelina e gonadorelina. Para as concentrações hormonais plasmáticas de fêmeas e de machos, o delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso, com os tratamentos em um esquema fatorial 3 x 2 (indução com EBHC, acetato de buserelina e gonadorelina, e coleta sangue antes e após a aplicação hormonal).

Os dados obtidos foram testados quanto às pré-suposições e submetidos à análise de variância. Para as variáveis que apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos, as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 95% de significância. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software "R" implementado para Windows na versão 3.1.0.

## Resultados

Nos parâmetros analisados para as fêmeas, não foi observada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) nas variáveis: peso de desova e diâmetro de ovócitos (Tab. 1).

Foi observada taxa de fertilização somente para os tratamentos que utilizaram a gonadorelina e o EBHC, sem haver distinção ( $P > 0,05$ ) entre eles (Tab. 1).

A interação entre os protocolos de indução (EBHC, acetato de buserelina e gonadorelina) e o momento de coleta de sangue (antes e após a aplicação hormonal) não foi significativa para os níveis hormonais plasmáticos de fêmeas e de machos.

Tabela 1. Valores médios ( $\pm$  desvio-padrão) dos parâmetros reprodutivos de fêmeas de curimba (*Prochilodus lineatus*; n = 10) induzidas com diferentes hormônios.

Tratamento	Fêmeas desovadas (%)	Peso de desova (g)	Diâmetro de ovócitos ( $\mu$ m)	Fertilização (%)
EBHC	20	90,0 $\pm$ 70,7 <sup>A</sup>	4,4 $\pm$ 0,1 <sup>A</sup>	93,5 $\pm$ 4,9 <sup>A</sup>
Acetato de buserelina	20	169,0 $\pm$ 22,0 <sup>A</sup>	4,8,0 $\pm$ 1,5 <sup>A</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>B</sup>
Gonadorelina	40	171,0 $\pm$ 18,0 <sup>A</sup>	4,9 $\pm$ 0,5 <sup>A</sup>	81,8 $\pm$ 17,0 <sup>A</sup>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem estatisticamente pelo teste F. EBHC: extrato bruto de hipófise de carpa.

As fêmeas (Tab. 2) e os machos (Tab. 3) de curimba induzidas com diferentes protocolos hormonais não apresentaram diferenças ( $P > 0,05$ ) nas concentrações plasmáticas de estradiol, FSH e LH antes e após a aplicação hormonal. Porém, nas fêmeas, as concentrações de progesterona foram maiores ( $P < 0,05$ ) no sangue coletado antes da indução hormonal (Tab. 2) em relação ao coletado após a indução.

Nos machos, as concentrações de progesterona foram maiores ( $P < 0,05$ ) no tratamento em que se utilizou o EBHC como hormônio indutor, quando comparado com a utilização de gonadorelina e acetato de buserelina, fato este verificado antes e após a aplicação hormonal (Tab. 3).

Nas análises do volume, taxa de motilidade espermática e concentração, não foi observada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes tratamentos (Tab. 4). Porém, quando analisada a morfologia, as anormalidades secundárias (cabeça isolada, gota proximal e distal e cauda isolada) e totais apresentaram diferença ( $P < 0,05$ ) entre os hormônios utilizados na indução da reprodução. A utilização de EBHC proporcionou um maior número de espermatozoides com anormalidades. Por outro lado, quando se avaliaram as anormalidades secundárias, com a utilização de acetato de buserelina, obteve-se uma menor ( $P < 0,05$ ) porcentagem de espermatozoides anormais.

Tabela 2. Valores médios ( $\pm$  desvio-padrão) dos níveis plasmáticos de estradiol, FSH, LH e progesterona das fêmeas de curimba (*Prochilodus lineatus*) (n = 10).

Trat.	Estradiol (ng/mL)			FSH (ng/mL)			LH (ng/mL)			Progesterona (ng/mL)		
	AAH	DAH	Médias	AAH	DAH	Médias	AAH	DAH	Médias	AAH	DAH	Médias
EBHC	1392,6 $\pm$ 491,0	2290,6 $\pm$ 129,8	1841,6 $\pm$ 310,4	4,7 $\pm$ 0,1	3,7 $\pm$ 0,1	4,2 $\pm$ 0,1	11,6 $\pm$ 0,0	12,1 $\pm$ 0,1	11,85 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 0,3
A	2398,5 $\pm$ 290,1	2700,2 $\pm$ 129,1	2549,3 $\pm$ 209,6	4,4 $\pm$ 0,2	5,7 $\pm$ 0,1	5,05 $\pm$ 0,2	11,0 $\pm$ 0,5	9,5 $\pm$ 0,4	10,25 $\pm$ 0,5	1,5 $\pm$ 0,6	1,2 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,6
G	1004,3 $\pm$ 505,5	1709,8 $\pm$ 121,7	1357,1 $\pm$ 313,6	5,2 $\pm$ 0,2	6,1 $\pm$ 0,1	5,65 $\pm$ 0,2	10,9 $\pm$ 0,4	9,5 $\pm$ 0,5	10,2 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,8	0,9 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,5
Médias	1598,5 $\pm$ 428,9	2233,5 $\pm$ 126,9		4,8 $\pm$ 0,2	5,2 $\pm$ 0,1		11,2 $\pm$ 0,3	10,4 $\pm$ 0,3		1,4 $\pm$ 0,5A	1,0 $\pm$ 0,3B	

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas linhas diferem estatisticamente pelo teste F. EBHC: extrato bruto de hipófise de carpa, A: acetato de busserelina, G: gonadorelina, AAH: antes da aplicação hormonal, DAH: depois da aplicação hormonal, FSH: hormônio foliculo estimulante, LH: hormônio luteinizante.

Tabela 3. Valores médios ( $\pm$  desvio-padrão) dos níveis plasmáticos de estradiol, FSH, LH e progesterona dos machos de curimba (*Prochilodus lineatus*) (n=10).

Trat	Estradiol (ng/mL)			FSH (ng/mL)			LH (ng/mL)			Progesterona (ng/mL)		
	AAH	DAH	Médias	AAH	DAH	Médias	AAH	DAH	Médias	AAH	DAH	Médias
EBHC	1171,9 $\pm$ 121,9	1490,8 $\pm$ 77,7	1331,4 $\pm$ 100	5,3 $\pm$ 0,3	5,4 $\pm$ 0,3	5,4 $\pm$ 0,3	7,8 $\pm$ 0,7	11,3 $\pm$ 0,2	9,6 $\pm$ 0,5	1,9 $\pm$ 0,1	2,3 $\pm$ 0,1	2,1 $\pm$ 0,1A
A	870,1 $\pm$ 31,8	1232,4 $\pm$ 90,9	1051,3 $\pm$ 61,4	5,1 $\pm$ 0,2	4,1 $\pm$ 0,1	4,6 $\pm$ 0,2	11,5 $\pm$ 0,4	11,8 $\pm$ 0,1	11,7 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1B
G	972,3 $\pm$ 41,3	972,0 $\pm$ 32,5	972,2 $\pm$ 37	5,2 $\pm$ 0,1	5,8 $\pm$ 0,2	5,5 $\pm$ 0,2	9,4 $\pm$ 0,4	10,4 $\pm$ 0,4	9,7 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1B
Médias	1004,8 $\pm$ 65	1231,7 $\pm$ 67		5,2 $\pm$ 0,2	5,1 $\pm$ 2,2		9,6 $\pm$ 0,5	11,2 $\pm$ 0,2		1,3 $\pm$ 0,1	1,7 $\pm$ 0,1	

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem estatisticamente pelo Scott-Knott a 5%. EBHC: extrato bruto de hipófise de carpa, A: acetato de busserelina, G: gonadorelina, AAH: antes da aplicação hormonal, DAH: depois da aplicação hormonal, FSH: hormônio foliculo estimulante, LH: hormônio luteinizante.

Tabela 4. Valores médios ( $\pm$  desvio-padrão) dos parâmetros reprodutivos de machos de curimba (*Prochilodus lineatus*; n = 10) induzidos com diferentes hormônios.

Tratamentos	Volume (mL)	ME (%)	CE ( $\times 10^9$ spmtz/mL)	AP (%)	AS (%)	AT (%)
EBHC	1,4 $\pm$ 0,7 <sup>A</sup>	97,2 $\pm$ 2,4 <sup>A</sup>	79,5 $\pm$ 16,7 <sup>A</sup>	7,0 $\pm$ 2,2 <sup>A</sup>	8,8 $\pm$ 2,1 <sup>A</sup>	15,8 $\pm$ 3,9 <sup>A</sup>
A	1,2 $\pm$ 0,4 <sup>A</sup>	98,0 $\pm$ 1,4 <sup>A</sup>	77,1 $\pm$ 25,6 <sup>A</sup>	6,2 $\pm$ 2,9 <sup>A</sup>	5,5 $\pm$ 1,8 <sup>B</sup>	11,7 $\pm$ 3,1 <sup>B</sup>
G	1,4 $\pm$ 1,0 <sup>A</sup>	99,3 $\pm$ 0,8 <sup>A</sup>	86,1 $\pm$ 16,5 <sup>A</sup>	4,4 $\pm$ 1,4 <sup>A</sup>	7,7 $\pm$ 4,3 <sup>A</sup>	12,3 $\pm$ 4,6 <sup>B</sup>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes nas colunas diferem estatisticamente pelo Scott-Knott a 5%. EBHC: extrato bruto de hipófise de carpa, A: acetato de buserelina, G: gonadorelina, ME: motilidade espermática, CE: concentração espermática, AP: anormalidades primárias, AS: anormalidades secundárias, AT: anormalidades totais, spmtz: espermatozoides.

### Discussão

Paulino et al. (2011) avaliaram o efeito da buserelina em curimba com a aplicação de duas doses (0,125 e 0,25 mL kg<sup>-1</sup>) para as fêmeas e uma única dose de 0,25 mL kg<sup>-1</sup> para os machos, e concluíram que esse hormônio é eficiente para induzir a reprodução dessa espécie. Porém, sugeriram que outras doses deveriam ser testadas com a finalidade de se obterem resultados mais satisfatórios, tendo em vista que obtiveram uma taxa de fertilidade de 40%.

A porcentagem de fêmeas que apresentaram desova foi baixa. De acordo com Silva et al. (2009), cada indivíduo responde de forma diferente à indução hormonal. Esse fator provavelmente está relacionado ao estado fisiológico de cada animal, o que pode ser afetado pelos fatores ambientais temperatura e fotoperíodo, que exercem influência direta na reprodução (Querol et al., 2004).

Esses fatores ambientais podem afetar e definir o período de gametogênese, vitelogênese e maturação gonadal dos peixes (Bayarri et al., 2004). Vale ressaltar que a indução hormonal atua somente na fase final de maturação e desova dos peixes, e, para que ela seja bem-sucedida, os gametas já devem estar completamente desenvolvidos.

A taxa de fertilização é um dos principais parâmetros a serem avaliados para prever a eficiência da indução hormonal. Nesse sentido, a utilização de gonadorelina foi semelhante à de EBHC, podendo ser indicada como hormônio alternativo ao uso de EBHC, tendo em vista que este apresenta alto custo, além de ser um produto cuja utilização é proibida no estado de Minas Gerais, sendo permitido seu uso somente em estudos científicos (Andrade, 2012).

Neste trabalho, não foi observada diferença nas concentrações de estradiol nos diferentes tratamentos utilizados, em machos e fêmeas. O estradiol é responsável por induzir e manter o desenvolvimento ovariano, e essas concentrações são maiores em fêmeas do que em machos (Miura et al., 1999).

Mehdi e Mousavi (2011) descrevem que altas concentrações de estradiol estimulam a síntese da vitelogenina, o qual é incorporado pelos oócitos, sob a ação do FSH, que está associado com o início da maturação e com o processo vitelogênico, enquanto o LH estaria associado com a liberação dos esteroides maturacionais que induzem a maturação final do ovócito e a ovulação.

Tem sido observado em algumas espécies de peixes que as concentrações plasmáticas de ambas as gonadotrofinas FSH e LH aumentam progressivamente, a partir de cerca de seis e quatro dias, respectivamente, antes do início da maturação (Breton et al., 1998). Logo após a ovulação, entretanto, é possível observar um grande aumento das concentrações de FSH e uma diminuição do LH durante até duas semanas. De acordo com Merson et al. (2000), as concentrações máximas de E2 e T também são obtidas antes do período da desova.

Nos machos, os processos de espermatogênese e formação do sêmen estão sob o controle da testosterona e da 11-cetotestosterona (11-kt). A 11-kt estimula as células de Sertoli a produzirem activina, as quais, juntamente com esse hormônio, estimulam a proliferação das espermatogônias. No fim da espermatogênese, há uma diminuição das concentrações de FSH e 11-kt e um aumento de LH e de hidroxiprogesterona, processo este que é essencial para a maturação do esperma e a espermição (Miura e Miura, 2003).

As concentrações de progesterona nos animais que foram induzidos com o EBHC foram maiores do que nos animais que receberam os demais tratamentos. A progesterona é responsável por estimular a ovulação diretamente em algumas espécies; em outras, estimula a liberação de prostaglandina F pelos ovários, e esta substância promove a desova (Baldisserotto, 2009), sendo, dessa forma, um dos principais hormônios a serem considerados em peixes que estão em cativeiro, uma vez que animais nessas condições não conseguem chegar ao processo de liberação dos gametas.

As características seminais são muito variadas entre as espécies de peixe, e a sua avaliação é de grande importância para o estabelecimento da fertilização artificial. O volume e a concentração espermática foram semelhantes nos diferentes tratamentos. Na maioria das espécies de peixes que recebem o tratamento hormonal,



é observado um aumento significativo no volume seminal, porém esse parâmetro não tem um valor intrínseco biológico, e sim a quantidade de células fecundantes que o sêmen possui (Murgas et al., 2011).

O volume seminal obtido dos animais que receberam a aplicação de EBHC foi de  $1,4 \pm 0,7$  mL, Silva et al. (2009), quando trabalharam com a mesma espécie, obtiveram  $1,74 \pm 1,1$  mL, porém a concentração espermática foi menor ( $28 \pm 11,8 \times 10^9$  espermatozoides/mL) em relação à verificada no presente trabalho, que foi de  $79,5 \pm 16,7 \times 10^9$  espermatozoides/mL.

Segundo Murgas et al. (2007), a curimba produz um volume de sêmen de 0,8 a 3,8 mL, e essa variação pode ser devido a fatores como alimentação dos reprodutores nos períodos anteriores à reprodução, densidade de estocagem, qualidade da água, dose hormonal aplicada e tipo de hormônio utilizado.

Quanto à morfologia espermática, foram observadas, no máximo,  $15,8 \pm 3,9\%$  de anormalidades totais. Esse valor está dentro dos limites aceitáveis para a utilização no processo de fertilização em peixes. De acordo com Miliorini et al. (2011), porcentagem de até 50% é considerada aceitável para ser utilizada nesse processo, tendo em vista que essa técnica envolve a utilização de uma alta taxa de espermatozoides:ovócito em ambiente controlado (Andrade et al., 2014).

Segundo Herman et al. (1994), as alterações morfológicas podem ocorrer durante a espermatogênese, em decorrência de causas que acometem os reprodutores, tais como enfermidades, consanguinidade, restrição alimentar e estresse ambiental. Por outro lado, elas também podem estar relacionadas aos procedimentos de manejo durante a coleta do sêmen. Essa avaliação pode auxiliar na caracterização de amostras seminais, ao fazer inferência sobre seu potencial fertilizante e explicar insucessos de reprodutores tidos como aptos após análises convencionais.

### Conclusão

A gonadorelina na dose aplicada pode ser utilizada como um hormônio alternativo à utilização do extrato bruto de hipófise de carpa na reprodução induzida de curimba.

### Referências

- Andrade ES, Paula DAJ, Felizardo VO, Murgas LDS, Veras GC, Rosa PV.** Milt cryopreservation for rheophilic fish threatened by extinction in the Rio Grande, Brazil. *Cryo Lett*, v.35, p.8-14, 2014.
- Andrade ES.** Protocolos de indução hormonal em lambari (*Astyanax fasciatus*) e curimba (*Prochilodus lineatus*). 2012. 89f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2012.
- Baldisserotto B.** Fisiologia de peixe aplicada à piscicultura. 2.ed. Santa Maria: UFSM, 2009.
- Bayarri MJ, Rodriguez L, Zanuy S.** Effect of photoperiod manipulation on formatted: Spanish (Spain-modern sort the daily rhythms of melatonin and reproductive hormones in caged european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Gen Comp Endocrinol*, v.136, p.72-81, 2004.
- Breton B, Govoroun M, Mikolajczyk T.** GTH I and GTH II secretion profiles during the reproductive cycle in female rainbow trout: relationship with pituitary responsiveness to GnRH-A stimulation. *Gen Comp Endocrinol*, v.111, p.38-50, 1998.
- Carneiro PC, Mikos JD.** Gonadotrofina coriônica humana e hormônio liberador de gonadotrofina como indutores da reprodução do jundiá. *Acta Scient Anim Sci*, v.30, p.345-350, 2008.
- Felizardo VO, Mello RA, Murgas LDS, Andrade ES, Drumond MM, Rosa PV.** Effect of cryopreservant combinations on the motility and morphology of curimba (*Prochilodus lineatus*) sperm. *Anim Reprod Sci*, v.122, p.259-263, 2010.
- Felizardo VO, Murgas LDS, Andrade ES, López PA, Freitas RTF, Ferreira MR.** Effect of timing of hormonal induction on reproductive activity in lambari (*Astyanax bimaculatus*). *Theriogenology*, v.77, p.1570-1574, 2012.
- Freitas RTF, Freato TA, Santos VB.** Espécies cultivadas. In: Murgas LDS, Rosa PV, Freitas RTF (Ed.). Reprodução/espécies para piscicultura. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. p.17-28.
- Herman HA, Mitchell JR, Doak GA.** The artificial insemination and embryo transfer of dairy and beef cattle. Danville, IL: Interstate, 1994.
- Mehdi Y, Mousavi SE.** A review of the control of reproduction and hormonal manipulations in finfish species. *Afr J Agr Res*, v.6, p.1643-1650, 2011.
- Merson RR, Casey CS, Martinez C, Soffientino B, Chandlee M, Specker JL.** Oocyte development in summer flounder: seasonal changes and steroid correlates. *J Fish Biol*, v.57, p.182-196, 2000.
- Miliorini AB, Murgas LDS, Rosa PV, Oberlender G, Pereira GJM, Costa DV.** A morphological classification proposal for curimba (*Prochilodus lineatus*) sperm damages after cryopreservation. *Aquacul Res*, v.42, p.177-87, 2011.
- Miura T, Miura CI.** Molecular control mechanisms of fish spermatogenesis. *Fish Physiol Bioch*, v.28, p.181-186, 2003.



- Miura T, Miura C, Ohta T, Nader MR, Todo T, Yamauchi K.** Estradiol-17 $\beta$  stimulates the renewal of spermatogonial stem cells in males. *Biochem Biophys Res Commun*, v.264, p.230-234, 1999.
- Muniz JASM, Catanho MTJA, Santos AJG.** Influência do fotoperíodo natural na reprodução induzida do tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). *Bol Inst Pesca*, v.34, p.205-211, 2008.
- Murgas LDS, Felizardo VO, Ferreira MR, Andrade ES, Veras GC.** Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. *Rev Bras Reprod Anim*, v.35, p.190-196, 2011.
- Murgas LDS, Miliorini AB, Freitas RTF, Pereira GJM.** Criopreservação do sêmen de curimba (*Prochilodus lineatus*) mediante adição de diferentes diluidores, ativadores e crioprotetores. *Rev Bras Zootec*, v.36, p.526-531, 2007.
- Mylonas CC, Fostier A, Zanuy S.** Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *Gen Comp Endocrinol*, v.165, p.516-534, 2010.
- Paulino MS, Miliorini AB, Murgas LDS, Lima FSM, Felizardo VO.** Desempenho reprodutivo do pacu, piracanjuba e curimba induzidos com extrato de buserelina. *Bol Inst Pesca*, v.37, p.39-45, 2011.
- Querol MVM, Querol E, Pessano EF.** Influência de fatores abióticos sobre a dinâmica da reprodução do cascudo viola *Loricariichthys platymetopon* (Isbrucker & Nijssen, 1979) (Osteichthyes, Loricariidae), no reservatório da Estância Nova Esperança, Uruguaiana, bacia do rio, RS, Brasil. *Biod Pampeana*, v.2, p.24-29, 2004.
- Silva JMA, Murgas LDS, Felizardo VO, Pereira GJM, Navarro RD, Mello RA.** Características seminais e índices reprodutivos de curimba (*Prochilodus lineatus*) em diferentes períodos reprodutivos. *Rev Bras Saúde Prod Anim*, v.10, p.668-677, 2009.
- Streit Jr. DP, Benites C, Moraes GV, Ribeiro RP, Sakaguti ES, Caldieri RF.** Sêmen de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criopreservado com diluentes utilizados para sêmen de suínos. *Cienc Anim Bras*, v.7, p.289-297, 2006.
- Vazirzadeh A, Amiri BM, Yelghi S, Hajimoradloo A, Nematollahi MA, Mylonas CC.** Comparison of the effects of different methods of mammalian and salmon GnRH $\alpha$  administration on spawning performance in wild-caught female carp (*Cyprinus carpio carpio*) from the Caspian Sea. *Aquaculture*, v.320, p.123-128, 2011.
- Woynarovich E, Horváth L.** Propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPQ, 1989.
- Zohar Y, Mylonas CC.** Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, v.197, p.99-136, 2001.
-