

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA**

JOSÉ ANTÔNIO SALGADO DE MOURA MUNIZ

**INFLUÊNCIA DO LHRH COMUM NA OVULAÇÃO INDUZIDA DO
TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER) (CHARACIFORME,
CHARACIDAE), EM DIFERENTES FOTOPERÍODOS**

Recife, PE
Mar./ 2006

JOSÉ ANTÔNIO SALGADO DE MOURA MUNIZ

**INFLUÊNCIA DO LHRH COMUM NA OVULAÇÃO INDUZIDA DO
TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER) (CHARACIFORME,
CHARACIDAE), EM DIFERENTES FOTOPERÍODOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura

ORIENTADOR: PROF. DR. ATHIÊ JORGE GUERRA DOS SANTOS

Recife, PE
Mar./ 2006

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQÜICULTURA**

Parecer da Comissão examinadora da defesa de Dissertação de Mestrado de

JOSÉ ANTÔNIO SALGADO DE MOURA MUNIZ

**INFLUÊNCIA DO LHRH COMUM NA OVULAÇÃO INDUZIDA DO
TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER) (CHARACIFORME,
CHARACIDAE), EM DIFERENTES FOTOPERÍODOS**

Área de Concentração: **Aqüicultura**

A comissão examinadora, composta pelos professores abaixo, sob a presidência do primeiro, considera o candidato **JOSÉ ANTÔNIO SALGADO DE MOURA MUNIZ** como aprovado.

Recife, 13 de março de 2006

Prof.Dr. Athiê Jorge Guerra dos Santos (UFRPE) – Orientador

Profª Dra. Maria Teresa Jansem de Almeida Catanho (UFPE)

Profª Dra. Maria do Carmo Figueredo Soares (UFRPE)

Prof Dr Eudes de Souza Correia (UFRPE)

Prof. Dr José Milton Barbosa (UFRPE) (Suplente)

Dedico este trabalho a DEUS, força máxima e suprema do universo e causa primária de todas as coisas, por me proporcionar mais um título acadêmico, ao meu pai, Antônio, e a minha avó Nana (*in memoriam*), pelo que representam para mim.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, o faço a Deus.

Ao Departamento de Aqüicultura e Pesca da UFRPE, pelo apoio na realização desse Curso.

Ao laboratório de Biofísica da UFPE pela realização das análises hormonais.

Ao laboratório de Endocrinologia da UFPE pela quantificação das análises hormonais.

Ao Prof. Dr. Athiê Jorge Guerra dos Santos, pela orientação, amizade e compreensão ao longo desse trabalho.

À Prof^a Dra. Maria Teresa Janssem de Almeida Catanho, pela prestimosa ajuda na análise de dados, que com sua boa vontade e atenção foi para mim de fundamental importância nesse trabalho.

Ao Prof. Dr. Daniel Pedro Udrisar, pela realização das análises hormonais.

À Prof^a Dra. Maria do Carmo Figueredo Soares, pela amizade e atenção que sempre me dispôs ao longo desse Curso.

À minha mãe Celina e minha irmã Laís, pelo incentivo ao longo do Curso.

À colega e experimeto Elba Maciel, que com sua experiência profissional, amizade e simpatia, foi de grande importância na realização desse trabalho.

Aos colegas e amigos de trabalho, Virgínia e Patrick, e em especial à Renata Neves que sempre foi companheira e colaboradora.

À bibliotecária da UFRPE, D. Tusinha, pela ajuda na normatização da bibliografia desse trabalho.

Às funcionárias do Departamento de Aqüicultura e Pesca, Telma e Selma e aos funcionários da Estação de Aqüicultura Johei Koike (UFRPE) pelo apoio `logístico`.

“É fácil apagar as pegadas,
difícil, porém, é caminhar
sem pisar no chão”.
(Lao Tse)

RESUMO

Devido às excepcionais características, o tambaqui, *Colosoma macropomum*, é dos peixes mais importantes na piscicultura brasileira. Por ser um peixe reofilico, não desova naturalmente em cativeiro, o que se faz necessária que a sua ovulação seja induzida artificialmente. No presente trabalho investigou-se os efeitos do LHRH comum na ovulação induzida do referida espécie em diferentes regimes fotoperiódicos. Utilizaram-se 17 fêmeas e 16 machos maduros, as quais foram induzidas com hormônio sintético LHRH comum (gonadorrelina) nos seguintes fotoperíodos: No fotoperiódico A, a indução hormonal iniciou-se à tardinha, enquanto no fotoperíodo B iniciou-se pela manhã. Em ambos os grupos, a dosagem hormonal decisiva aconteceu entre 12-13 horas após a primeira injeção. As concentrações totais nas fêmeas variou entre 500-1200 µgLHRH/peixe. Os machos receberam dosagem única de 50-100 µgLHRH/peixe. Não houve ocorrência da ovulação no fotoperiódico A, enquanto todas as fêmeas do fotoperíodo B, ovularam. Os níveis do hormônio 17α OH-P plasmático foram estatisticamente diferentes entre os dois grupos durante o considerado período de latência do hormônio indutor. Os resultados apontam para a existência de um 'gatilho fotoperiódico' que favorece a ocorrência da ovulação em fêmeas de tambaqui, quando são induzidas com o LHRH comum de uso veterinário.

ABSTRACT

Tambaqui *Colossoma macropomum* is one of the most important fishes in the Brazilian fish culture. Since it is an Amazonian migrating fish, its ovulation and spawning do not occur in captivity; therefore the induced reproduction of this fish is always needed. The present work investigated the effects of the common LHRH on the ovulation in tambaqui kept in different photoperiods. Seventeen mature females and sixteen males were used in the investigation. Females were induced to ovulate with the common LHRH, under two different photoperiods: In photoperiod A, the first hormonal injection started in later afternoon, while in the photoperiod B it started at early morning time. In each group, the second hormonal injection was done 12-13 after first injection. The total concentration of the LHRH applied in the female fish varied from 500-1200 µg/fish. All males received a single dose of 50-100 µg LHRH/fish. No ovulation occurred in the females of the photoperiod A, while all females in the photoperiod B, ovulated. There was a statistical difference in the levels of the 17 α OH-P hormone between the two groups, during the considered period of latency of the inducer hormone. The results point to an existence of a photoperiodic cue, which can favor the occurrence of the ovulation in tambaqui, when induced with the common LHRH of veterinary use.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
1. OBJETIVOS	16
1.1. Objetivo geral	16
1.2. Objetivos específicos	16
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
3. ARTIGO PARA SUBMISSÃO DO BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA	24
INTRODUÇÃO	25
MATERIAL E MÉTODOS	26
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
AGRADECIMENTOS	28
BIBLIOGRAFIA CITADA	28
REFERÊNCIAS	30
ANEXOS	35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PESO DAS FÊMEAS*, DOSAGENS HORMONAIIS USADAS NAS FÊMEAS DO FOTOPERÍODO A E OCORRÊNCIA DA OVULAÇÃO	36
TABELA 2 - PESO DAS FÊMEAS*, DOSAGENS HORMONAIIS USADAS NAS FÊMEAS DO FOTOPERÍODO B E OCORRÊNCIA DA OVULAÇÃO	37
TABELA 3 - VARIAÇÃO DA PROGESTERONA (17A OH-P EM NG/ML) DE FÊMEAS PERTENCENTES AO FOTOPERÍODO A, NOS TEMPOS 0, 12 E 24 HORAS APÓS A PRIMEIRA INDUÇÃO DO LHRH	38
TABELA 4 - VARIAÇÃO DA PROGESTERONA (17A OH-P EM NG/ML) DE FÊMEAS PERTENCENTES AO FOTOPERÍODO B, NOS TEMPOS 0, 12 E 24 HORAS APÓS A PRIMEIRA INDUÇÃO DO LHR	39

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CALENDÁRIO DAS INJEÇÕES HORMONAIS NOS TAMBAQUIS E ESTIMATIVAS DOS MOMENTOS DE OVULAÇÃO NOS FOTOPERÍODOS A E B. (*) SIGNIFICA MOMENTO DO ACASALAMENTO	40
FIGURA 2 - VALORES MÉDIOS DO 17A OH-PROGESTERONA PLASMÁTICO NAS FÊMEAS DE TAMBAQUI DO FOTOPERÍODO A, ANTES E APÓS A INDUÇÃO À OVULAÇÃO COM O LHRH COMUM.	41
FIGURA 3 - VALORES MÉDIOS DO 17A OH-PROGESTERONA PLASMÁTICO NAS FÊMEAS DE TAMBAQUI DO FOTOPERÍODO B, ANTES E APÓS A INDUÇÃO À OVULAÇÃO COM O LHRH COMUM	41

INTRODUÇÃO

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, Cuvier (1818), é um peixe pertencente à Ordem Characiforme e família Characidae e sub-família Myleinae (NAKATANI *et al.*, 2001). É um peixe nativo da Bacia Amazônica, Orinoco e seus rios afluentes, e constitui-se num dos maiores peixes de valor econômico da região. É o segundo maior peixe de escamas do rio Solimões/Amazonas que, no ambiente natural, pode chegar até 100 cm de comprimento e 30 kg de peso (ARAÚJO-LIMA E GOULDING, 1998).

O tambaqui está entre os peixes comerciais mais cultivados no Brasil, presente na maioria das pisciculturas do país, devido a características especiais, tais como: facilidade de cultivo, rusticidade, ótimo sabor e rápido crescimento (LOVSHIN, 1995).

Quanto a seu hábito alimentar, consome zooplâncton, frutos, algas filamentosas, insetos aquáticos, caramujos e outros moluscos; aceitando também as rações comerciais (HONDA, 1972).

No seu habitat, o tambaqui, realiza piracema. Sua reprodução ocorre no período das chuvas e, como em todo peixe teleósteo, a sua desova é regulada por ritmos endógenos mediados por fatores externos, tais como: variação de temperatura, mudanças cíclicas de luz (fotoperíodo), pressão da massa de água, pH, entre outras variáveis, que determinam o melhor período para a desova e proporcione grande sobrevivência da prole (WAYNAROVICH, 1986 ; ZANUY E CARRILLO, 1987).

Em ambientes confinados, supressões fisiológicas tendem a ocorrer no processo reprodutivo pois, sendo o tambaqui um peixe reofílico, condições artificiais (restrição de áreas para deslocamentos, variações de temperatura e fotoperíodo)

podem suprimir a ação de hormônios sexuais indutores da ovulação, nas quais o peixe pode até maturar, mas, não completa o processo de ovulação (ZOAR E MYLONAS, 2001 E YARON, 1995).

Para superar esse problema na reprodução de peixes reofílicos criados em cativeiro, induções hormonais são comumente usadas e, até o presente momento, empregam-se os seguintes hormônios: extrato bruto de hipófise e carpas (EBHC), LHRH (hormônio liberador do hormônio luteinizante, nonapeptídeo, superativo) e LHRH comum (decapeptídeo), síntese do análogo do LHRH natural.

O sistema reprodutor é regido pelo eixo endócrino composto principalmente pela pineal, hipotálamo, hipófise e gônadas. Ações de comando regulam a síntese e a liberação de hormônios na corrente sangüínea controlando, assim, o ciclo reprodutivo. Nesse processo, o sistema nervoso central (SNC) recebe e traduz para o cérebro os sinais advindos do meio ambiente que, por sua vez, são mediados pelos processos fisiológicos endógenos (REDDING E PATIÑO, 1993 *apud* ZANUY E CARRILLO, 1993).

O hormônio natural liberador da gonadotrofina, conhecido também como GnRH, é produzido no hipotálamo. Nas reproduções induzidas, é substituído pelo análogo LHRH sintético (LHRHa), que age diretamente na hipófise do peixe receptor estimulando, dessa forma, a sua própria gonadotropina, o que é considerado fisiologicamente mais adequado que o uso das gonadotropinas exógenas, que atuam diretamente nas gônadas. Por se tratar de hormônios gonadotróficos exógenos, esses agentes indutores podem causar, após um período prolongado, efeitos imunológicos ao peixe receptor (ZANUY e CARRILLO, 1987; HOAR, 1968).

Em diversos países, o libertador da gonadotropina mais usado na reprodução artificial de peixes é o desgly10D-Ala6-9LHRH-etilamida, denominado simplesmente

de sGnRH, ou seja, análogo do GnRH de salmão (KUBITZA, 2000). No Brasil, o mais utilizado é o LHRH comum de uso veterinário. Esse hormônio é uma cópia sintética do hormônio natural de mamíferos e cada vez mais se destaca com sucesso na reprodução induzida de peixes nativos, dentre estes, os do Gênero *Colossoma* (CURY e TSUKAMOTO, 1988). Estruturalmente, trata-se de uma cadeia curta de aminoácidos e logo se tornou evidente que não apresentava especificidade biológica, o que favorece a sua aplicação em outras espécies de animais.(VENTUERI e BERBARDINO, 1999).

Segundo Sherwood (1983), sua estrutura é pouco distinta às estruturas de peixes, mas podem inferir em resultados satisfatórios nessa classe de animais. Diferente do LHRH etilamida, o LHRH comum não é um hormônio superativo sendo, portanto, de fácil aquisição no mercado brasileiro a preços acessíveis.

Sabe-se que o fotoperíodo e temperatura regulam as atividades fisiológicas reprodutivas. Em peixes teleósteos, a ovulação e a desova tendem a ocorrer em determinadas horas do dia, e esse momento é influenciado pelo fotoperíodo (SHERWOOD, 1983; SANTOS, *et al*, 1986a, b). Assim pode-se considerar esse fator ecológico como um dos mais importantes no controle ou manipulação da reprodução de peixes.

As variações do fotoperíodo alteram a síntese da glândula pineal, que funciona como um fotoreceptor em peixes. Reporta-se que uma pinealectomia (extração da glândula pineal) causa indução ou regressão gonadal, dependendo da temperatura, fotoperíodo e estado gonadal e da espécie de peixe. Sabe-se, também, que a secreção da serotonina e melatonina por esta glândula varia de acordo com o fotoperíodo, promovendo, assim, alterações no sistema reprodutivo do peixe (ZANUY e CARRILO, 1987).

O hormônio gonadotrópico plasmático de peixes apresenta variação circadiana. Exerce influência nos hormônios sexuais, tais como o 17alfa-hidroxiprogesterona (17α -OH-P) e o 17alfa, 20beta dihidroxiprogesterona ($17\alpha,20\beta$ -diOH-P); sendo este último, um dos mais importantes hormônios na maturação final dos oócitos (YOUNG *et al.*, 1986; MATSUYAMA *et al.*, 1990).

No Brasil, a maioria das piscigranjas cria o tambaqui em regime de cativeiro. No entanto, para reproduzi-lo, faz-se necessária a reprodução induzida por meio de gonadotropinas exógenas ou pelo emprego de liberadores de gonadotropinas, sendo ultimamente o GnRH-comum o hormônio mais usado, pela facilidade de aquisição e eficiência. Por outro lado, a maioria das piscigranjas do país utiliza duas metodologias para induzir à ovulação na referida espécie tambaqui; um protocolo começando pela manhã (início da uma fase clara) e outro começando à tardinha (início de uma fase escura) sugerindo, assim, que um desses protocolos está indo de encontro à variação circadiana fisiológica reprodutiva normal da espécie, ao ser induzida à reprodução com um liberador da gonadotropina.

Conhecer a influência do fotoperíodo na ovulação induzida do tambaqui é de extrema importância à sua criação, pois favorece o melhor controle da sua reprodução em cativeiro, da qualidade dos gametas e, conseqüentemente, a otimização de sua prole.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo Geral

- Estudar os efeitos do LHRH comum (gonadorrelina) na ovulação induzida do tambaqui, *Colossoma macropomum*, em diferentes fotoperíodos.

1.2. Objetivos Específicos

- Quantificar a variação do 17 α OH-progesterona após a indução da ovulação com o LHRH comum, sob os diferentes fotoperíodos;
- Estabelecer a melhor metodologia de indução a partir dos resultados obtidos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O tambaqui era uma das espécies de peixes mais exploradas na Amazônia central nos meados da década de 70 (PETRERE JÚNIOR, 1978). Nos anos 80, constituía uma das espécies de maior importância no mercado de Porto Velho-RO (BOICHIO, 1992). Ainda na década de 80, intensificou-se a captura a tal ponto que os estoques pesqueiros começaram a diminuir cada vez mais em quantidade e tamanho; fazendo com que a quantidade de pescados caísse de 80 Kg/ pescador, para metade desse número. (MERONA e BITTENCOURT, 1988).

Essa situação evidencia as qualidades do tambaqui, em especial, o sabor de sua carne. Qualidade esta, associada a outras, como: adaptação ao cativeiro, rusticidade, resistência doenças e rápido crescimento faz do tambaqui um peixe com alto potencial para o cultivo em regiões tropicais (LOVSHIN, 1995).

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, Cuvier(1818) pertence a família Caracidae e sub-família Myleinae (GERY, 1986). Ainda, segundo Lima e Goulding (1998), Cuvier foi muito geral quanto a classificação do tambaqui, a tal ponto que suas descrições causaram muita confusão nos 160 anos.

Na nutrição, sementes e zooplâncton são os principais alimentos que contribuem com os elementos nutricionais essenciais à dieta do tambaqui. (FORSBERG *et al.*, 1993). No que se refere às sementes, algumas são muito ricas em proteínas e lipídios, já outras, destacam-se os carboidratos, assim como as frutas (LIMA e GOULDING, 1998).

A reprodução é um processo pelo qual uma espécie se perpetua, transmitindo a seus descendentes as mudanças ocorridas em seu genoma. O sucesso obtido por qualquer espécie é determinado, em última instância, pela

capacidade de seus integrantes reproduzir-se em ambientes variáveis, mantendo populações variáveis (VAZZOLER, 1996).

Na natureza, os peixes desenvolvem estratégias reprodutivas, que consistem num conjunto de características que sua espécie deverá manifestar para que a reprodução tenha sucesso. Quando ocorre a variação na condição de determinado ambiente, determinam mudanças em algumas características da estratégia. Essas características variáveis são denominadas táticas reprodutivas, que na verdade são respostas as flutuações do ambiente (WOOTTON, 1989).

Dentre as táticas citadas por Vazzoler (1996), merece destaque especial o desencadeamento do processo hormonal, por ação de estímulos de fatores ambientais (temperatura e fotoperíodo), que determina o desenvolvimento das estruturas reprodutivas e culmina com a desova.

O tambaqui atinge a maturidade sexual com 3 a 4 anos, quando machos e 4 a 5 anos, quando fêmeas (WAYNAROWICH e HORVATH, 1989). A partir dessa idade realizam migrações e, quando estão aptos para a reprodução, realizam-na num período de 2 a 5 meses do início até o meio da enchente anual (PINHEIRO, 1985).

Quanto ao local de desova, não se conhece com exatidão, mas acredita-se que seja nas proximidades dos canais dos rios que abastecem as várzeas e lagoas dos rios originados nas encostas dos Andes, durante as primeiras enchentes. Estes rios são denominados rios brancos, devido ao material de suspensão que assegura a coloração esbranquiçada. Tais enchentes na região ocorrem entre os meses de novembro e fevereiro (GOULDING e CARVALHO, 1982).

Na natureza, freqüentemente a desova do peixe maduro se concretiza. Se o peixe que desova em rio é mantido em cativeiro, a sua gônada se desenvolve

somente até um certo estágio e permanece “dormente” até que se inicia a reabsorção. Esse processo pode se repetir ano após ano, sem jamais levar a desova. No entanto, a propagação desses peixes pode ser alcançada pela indução artificial da ovulação na época certa.

Após a desova, o desenvolvimento dos novos ovos começa imediatamente e prossegue até chegar à fase de repouso. Recorrendo-se à indução artificial da ovulação, o mesmo peixe que, em condições naturais, desova apenas uma vez ao ano, pode ser reproduzido duas ou mais vezes ao ano (WAYNAROWICK e HORWATH, 1989).

Ainda de acordo com Waynarowick e Horwath (1989), com a indução artificial, provocada pela intervenção humana no processo de reprodução natural de peixes cultivados, pode-se alcançar uma melhor sobrevivência da sua prole. As técnicas de reprodução artificial de peixes são múltiplas; destacando-se dois tipos: sem e com a utilização de hormônios. O primeiro tipo, sem utilização de substâncias (simula condições ambientais favoráveis aos peixes) e o segundo, utilizando hormônio injetável, estimulador da ovulação.

A reprodução induzida torna-se um processo muito importante, especialmente para as espécies indígenas reofílicas, ameaçadas de extinção, em virtude do desaparecimento das matas ciliares e das lagoas marginais e construção de grandes barragens hidroelétricas que alteram seu habitat e tem dificultado sua reprodução (CASTAGNOLLI, 1992).

A primeira tentativa de reproduzir o tambaqui foi em 1974, no Centro de Pesquisas Ictiológicas do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), em Pentecostes - CE (SILVA E PINHEIRO, 1989).

Na primeira geração de indutores artificiais, na década de 30, através de Rodolph Von Ihering, utilizou-se de hipófise de carpas (EBHC) (MENEZES, 1943).

A aplicação do soro hipofisário pode ser de várias maneiras, baseadas no número de hipófises por peixe vivo ou no peso da hipófise por quilo de peixe. (CASTAGNOLLI e TORNIOLO, 1980).

Na segunda geração de indutores artificiais, destacaram-se o HCG (Hormônio Coriônico Humano); o LHRHa (análogo do hormônio liberador do hormônio luteinizante, um nonapeptídeo superativo); LHRH comum, um decapeptídeo, cópia sintética do hormônio natural.

O uso do LHRH se deu após seu isolamento em laboratório e caracterizado no hipotálamo de porcos e ovinos em 1971. A seqüência de aminoácidos desse GnRH logo foi determinada, mesmo sendo de mamíferos, logo se tornou evidente que ela não tinha espécie-específica. Em 1975, apareceu o primeiro trabalho usando o LHRH em cinco espécies de peixes cultivados na China. Hoje em dia, o conhecimento sobre a estrutura e função do GnRH tem aumentado muito, e sabe-se que o GnRH de peixes (salmão), que na verdade é mesmo um decapeptídeo e idêntico em 80% a do LHRH de mamíferos e essa realidade e similitude tem permitido a utilização do LHRH na piscicultura (VENTUERI E BERNARDINO, 1999).

Na natureza, os estímulos ambientais são captados pelos peixes através de seus órgãos sensoriais. Os sistemas sensoriais e áreas específicas do cérebro servem para integrar eventos internos e externos, que resultam alterações no sistema reprodutivo. Os sinais são enviados através dos olhos, sistema olfativo, vomeronasal ou auditivo, com *inputs* a núcleos cerebrais específicos. Os *inputs* de informações para o sistema neurohormonal e como o cérebro pode integrar o *output* neurohormonal para regular a atividade reprodutiva, é preciso conhecer como os

vários órgãos atuam como uma unidade: são os elementos do sistema hipotálamo→hipófise→gônadas (VENTUERI e BERNARDINO, 1999).

O hipotálamo recebe informações de neurotransmissores cerebrais, estimula a produção de GnH; este, por sua vez, atua na hipófise na liberação de GtH, que atua diretamente nas gônadas promovendo a liberação de hormônios esteroidais, os quais irão maturar os gametas - óvulos e espermatozóides (ZANUY e CARRILLO, 1987).

Quanto aos níveis de GtH em peixes fêmeas, diz-se que existem dois no processo fisiológico reprodutivo: o GtH I e o GtH II. O nível de GtH I são elevados durante a vitelogênese e controla a liberação ovariana de 17alfa-estradiol e estimula a produção hepática de vitelogenina e sua entrada no oócito. O GtH II atua em duas etapas na síntese do 17alfa-hidroxiprogesterona (17 α OH-P), a partir do colesterol das células da teca e na outra etapa na conversão do 17 α OH-P em 17alfa-20beta-dihidroprogesterona nas células da granulosa do ovário; este último é considerado o hormônio maturador dos oócitos (BALDISSEROTTO, 2002).

Muitos trabalhos vêm sendo realizados no mundo com a utilização do LHRH com peixes de regiões temperadas tais como: HOWELL *et al.*, 2003; SLATER *et al.*, 1995; HADDY E PANKHURST, 2000; MANICKAM E JOY, 1998; PRAT *et al.*, 2001; RICHTER *et al.*, 1987; MOREHEAD *et al.*, 1998, LIN *et al.*, 1995; MYLONAS *et al.*, 1992; MYLONAS *et al.*, 2003; DUNCAN *et al.*, 2003; MUHAMMED *et al.*, 2004. E ainda com peixes tropicais: ISEKI, 2002; CURY e TSUKAMOTO, 1986; SANTOS *et al.*, 1991.

A piscicultura brasileira, no que se refere à reprodução induzida, ainda está atrelada ao uso do hormônio hipofisário que, além de possuir alto valor de mercado,

apresenta o inconveniente de não possuir uma quantidade definida de gonadotropina, de modo que assegure um padrão na metodologia.

Assim, o uso de hormônios sintéticos, como o LHRH comum, poderá ser uma saída a estes contrapontos para a indução hormonal de peixes de grande significância econômica como o tambaqui, pois são adquiridos em dosagens definidas, são práticos, de fácil aquisição e valor de mercado compensador.

Em conjunto ao fotoperíodo, outros fatores podem ser destacados, tais com: temperatura, estágio maturacional do peixe, chuvas e salinidade influenciam fortemente na reprodução dos peixes (BROMAGE *et al.*, 2001).

Existe uma série de ciclos periódicos na natureza, diário (dia e noite), sazonal, lunar, marés, seca e chuva. A vida evolui relacionada a esses ciclos, de modo que propicie uma melhor adaptação à sobrevivência do máximo de descendentes. Alguns ciclos são baseados em relógios internos, mas são disparados por mudanças nas condições ambientais, tais como o fotoperíodo (BALDISSEROTTO, 2002).

A resposta fotoperiódica funciona como um mecanismo que compreende processos relacionados tais como: medida da longitude do dia e da noite e uma integração dos sucessivos ciclos fotoperiódicos. As alterações do fotoperíodo, tanto naturais quanto artificiais tem sido de grande importância para a iniciação e condução do desenvolvimento de peixes reprodutores de importância comercial, tais como, o salmão, trutas, dourada, mugilídeos e peixes amazônicos (ZANUY e CARRILLO, 1987).

Evidência apresentada por Santos *et al.* (1986 a,b) mostrou que em carpas, o fotoperíodo exerceu influência positiva para o surgimento do GtH pré-ovulatório e que em muitas espécies de peixes o GtH está atrelado ao padrão fotoperiódico.

A coincidência entre os níveis elevados dos esteróides sexuais com a maturação gonadal e os fotoperíodos decrescentes que seguem o solstício de verão e por outro lado, o efeito estimulador dos fotoperíodos curtos e constantes sobre a gametogênese, deu lugar a hipótese que nos salmonídeos, os fotoperíodos decrescentes disparam a maturação gonadal (BILLARD *et al.*, 1978 *apud* ZANUY e CARRILLO, 1987)

Experimento com o fotoperíodo modificado conjuntamente com a temperatura foi realizado utilizando o *Centropristes striata*, no qual foram implantados 25µg de LHRH, no que resultou pleno desenvolvimento gonadal e adiantamento em 2 meses do tempo do desenvolvimento ovocitário e desova (HOWELL *et al.*, 2003).

Observou-se que a influência do fotoperíodo está relacionada com o nível de circulação de melatonina secretada pela glândula pineal, e que era alto durante a noite e que, durante o dia, caía a níveis basais (BROMAGE *et al.*, 2001).

E, de acordo com Zanuy e Carrillo (1987), a melatonina é um neurotransmissor cerebral que, conjuntamente com outros fatores, tendem a desencadear uma cascata hormonal, na qual levará à maturação final dos oócitos. Ainda sobre a relação fotoperíodo e a melatonina, evidências indicam que em muitos peixes, o fotoperíodo é o principal item que controla o ritmo endógeno reprodutivo.

As mudanças sazonais na melatonina e ainda provavelmente na temperatura, no estado nutricional e no tamanho do peixe e fotoperíodo promovem a maturação final dos oócitos (BROMAGE *et al.*, 2001).

3. ARTIGO PARA SUBMISSÃO DO BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA

INFLUÊNCIA DO LHRH COMUM NA OVULAÇÃO INDUZIDA DO TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER) (CHARACIFORME, CHARACIDAE), EM DIFERENTES FOTOPERÍODOS

José Antônio Salgado de Moura MUNIZ¹; Maria Teresa Janssem de Almeida CATANHO²
Athiê Jorge Guerra dos SANTOS ¹

RESUMO

Influência do LHRH comum na ovulação induzida do tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier) (Characiforme, Characidae), em diferentes fotoperíodos. Devido às excepcionais características, o tambaqui, *Colossoma macropomum*, é dos peixes mais importantes na piscicultura brasileira. Por ser um peixe reofílico, não desova naturalmente em cativeiro, o que se faz necessária que a sua ovulação seja induzida artificialmente. No presente trabalho investigou-se os efeitos do LHRH comum na ovulação induzida do referida espécie em diferentes regimes fotoperiódicos. Utilizaram-se 17 fêmeas e 16 machos maduros, as quais foram induzidas com hormônio sintético LHRH comum (gonadorrelina) nos seguintes fotoperíodos: No fotoperiódico A, a indução hormonal iniciou-se à tardinha, enquanto no fotoperíodo B iniciou-se pela manhã. Em ambos os grupos, a dosagem hormonal decisiva aconteceu entre 12-13 horas após a primeira injeção. As concentrações totais nas fêmeas variou entre 500-1200 µgLHRH/peixe. Os machos receberam dosagem única de 50-100µgLHRH/peixe. Não houve ocorrência da ovulação no fotoperiódico A, enquanto todas as fêmeas do fotoperíodo B, ovularam. Os níveis do hormônio 17α OH-P plasmático foram estatisticamente diferentes entre os dois grupos durante o considerado período de latência do hormônio indutor. Os resultados apontam para a existência de um 'gatilho fotoperiódico' que favorece a ocorrência da ovulação em fêmeas de tambaqui, quando são induzidas com o LHRH comum de uso veterinário.

Palavras chave: LHRH comum, fotoperíodo, ovulação.

EFFECTS OF THE COMMON LHRH ON THE OVULATION IN TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (CUVIER) (CHARACIFORME, CHARACIDAE), IN DIFFERENT PHOTOPERIODS.

ABSTRACT

Tambaqui *Colossoma macropomum* is one of the most important fishes in the Brazilian fish culture. Since it is an Amazonian migrating fish, its ovulation and spawning do not occur in captivity; therefore the induced reproduction of this fish is always needed. The present work investigated the effects of the common LHRH on the ovulation in tambaqui kept in different photoperiods. Seventeen mature females and sixteen males were used in the investigation. Females were induced to ovulate with the common LHRH, under two different

¹ Departamento de Pesca, Av. Dom Manoel de Medeiros S/N, Dois Irmãos, CEP 52171-900, Recife, PE

² Departamento de Biofísica, Av. Prof. Moraes Rego, nº 1235, Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife, PE. E-mail. joanmuniz@bol.com.br

photoperiods: In photoperiod A, the first hormonal injection started in later afternoon, while in the photoperiod B it started at early morning time. In each group, the second hormonal injection was done 12-13 after first injection. The total concentration of the LHRH applied in the female fish varied from 500-1200 µg/fish. All male received a single dose of 50-100 µgLHRH/fish. No ovulation occurred in the females of the photoperiod A, while all females in the photoperiod B, ovulated. There was statistic difference in the levels of the 17α OH-P hormone between the two groups, during the considered period of latency of the inducer hormone. The results appoint to an existence of a photoperiodic cue, which can favor the occurrence of the ovulation in tambaqui, when is induced with the common LHRH of veterinary use.

Key words: Common LHRH, photoperiod, ovulation.

INTRODUÇÃO

O tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier,1818) é um dos peixes mais importantes da piscicultura brasileira, em especial nas regiões Norte e Nordeste. É nativo da bacia Amazônica e considerado o segundo maior peixe de escamas do rio Solimões e do Amazonas (GOULDING e CARVALHO, 1982). No ambiente natural, a sua ovulação e desova ocorrem no período das chuvas e tais eventos devem ser regulados por *inputs* fisiológicos, mediados por fatores externos, assim como acontece na maioria dos peixes teleósteos (VENTUERI e BERNARDINO, 1999).

No cativeiro, supressões fisiológicas no processo reprodutivo podem ocorrer, devido às restrições de fatores ambientais (áreas para deslocamento, fotoperíodo e temperatura) suprimindo, de alguma forma, a ação dos hormônios indutores da desova, pois, embora haja o desenvolvimento gonadal, o processo da maturação final (ovulação, seguida da desova) não acontece, por causa dessas restrições (ZOAR and MYLONAS, 2001). Para superar tal problema, hormônios exógenos são comumente aplicados. Os mais utilizados são: extrato bruto de hipófise de carpas (EBHC), o LHRHa (análogo do LHRH, superativo, liberador do hormônio luteinizante, nonapeptídeo) e o LHRH comum (cópia sintética do LHRH natural, decapeptídeo).

Reporta-se que o fotoperíodo e a temperatura regulam as atividades fisiológicas, entre elas, a reprodução. Em peixes teleósteos, a ovulação e a desova tendem a ocorrer em determinadas horas do dia, por causa da influência fotoperiódica (SHERWOOD, 1983). Assim, pode-se considerar essa variável ambiental, como um dos mais importantes no controle da reprodução induzida. Por outro lado, os picos da gonadatropina maturacional plasmática (GtHm) entre espécies de peixes variam de acordo com a hora do dia (ZANUY y CARRILLO, 1987). Sabe-se, também, que o GtH influencia a secreção e liberação dos hormônios esteróides sexuais gonadais, tais como a testosterona, o 17α hidroxiprogesterona (17α OH-P) e o 17α,20β-dihidroxiprogesterona (17α 20β diOH-P) (YOUNG *et al*, 1986), sendo este último um dos mais importantes hormônios na maturação final dos oócitos (MATSUYAMA *et al*, 1990).

Na maioria das piscigranjas e larviculturas do Brasil, o tambaqui é criado em regime de cativeiro, o que se faz necessária a prática da reprodução induzida por meio liberadores da gonadatropina e/ou de extratos gonadatrópicos exógenos. Grande parte dessas larviculturas, porém, utiliza duas metodologias de indução à ovulação no tambaqui: numa delas a primeira injeção hormonal é dada no peixe pela manhã, enquanto na outra a primeira injeção hormonal é aplicada à tarde. Em ambos casos, uma segunda injeção hormonal nas fêmeas é administrada entre 12-14 horas, após a primeira injeção. Isso sugere que uma dessas metodologias pode estar indo de encontro ao ciclo hormonal diário normal da espécie, prejudicando assim o processo da ovulação e a qualidade dos gametas. O presente

trabalho, portanto, visou estudar o efeito do LHRH comum (Gonadorrelina) na ovulação induzida do tambaqui *Colossoma macropomum*, em diferentes regimes fotoperiódicos. Investigou-se, também, a variação plasmática do hormônio 17 α -hidroxiprogesterona nos diferentes fotoperíodos.

MATERIAL E MÉTODOS

A investigação foi realizada na Estação de Aquicultura Continental Prof. Johei Koike, do Departamento de Pesca e Aquicultura/UFRPE, no período de setembro de 2004 a janeiro de 2005.

Um total de 17 fêmeas e 16 machos maduros de tambaqui, *Colossoma macropomum*, foi usado no presente trabalho. Os peixes foram selecionados no viveiro estoque (dimensões: 50 x 20x 1,5 m²) de acordo com suas características morfológicas externas; para as fêmeas, apresentando ventre distendido e flácido e papila genital avermelhada e dilatada. Nos machos observou-se a existência do sêmen sob uma ligeira pressão abdominal (YARON, 1995). Os tambaquis eram alimentados duas vezes ao dia (3% da biomassa total) com ração extrusada, contendo 28% de proteína bruta. A idade dos peixes variaram entre 3-4 e 4-5 anos para machos e fêmeas, respectivamente.

Os peixes selecionados foram usados em seis testes de indução à reprodução, conforme os protocolos A e B:

O protocolo A constou de 10 fêmeas e 10 machos. Oito fêmeas foram induzidas à ovulação com o LHRH comum (Gonadarrelina). A concentração total do hormônio para as fêmeas variou entre 700-1150 μ gLHRH/peixe, divididas em duas aplicações num intervalo entre 12-13 horas, exceto para o peixe controle (01 peixe) que recebeu apenas soro fisiológico. O peso das fêmeas variou entre 9,5-14,0 kg (Tabela 1). A concentração hormonal na primeira e segunda injeção variou de acordo com a evolução gonadal de cada fêmea. Nesse protocolo, a primeira injeção hormonal foi administrada entre 19-20 horas (Figura 1).

No protocolo B foram utilizadas 7 fêmeas e 6 machos. Cinco fêmeas foram induzidas à ovulação com o mesmo hormônio; as dosagens totais variaram entre 500-1200 μ gLHRH/peixe, divididas em duas aplicações entre de 12-14 horas, ou em dose única, exceto os dois peixes controles que receberam apenas soro fisiológico (Tabela 2). O peso das fêmeas variou entre 10,6-15,5 kg. Diferente do protocolo A, as primeiras injeções hormonais nesses últimos testes começaram entre 08-09 horas (Figura 1). Os machos receberam dose única de 50-100 μ gLHRH/peixe.

As concentrações totais do LHRH comum (Gonadorrelina), aqui empregadas nas fêmeas e machos de ambos fotoperíodos, são consideradas eficazes à indução da ovulação e espermeação do tambaqui. (PEREZ, 2003 ; SANTOS *et al*, 1991).

Coleta de sangue e análise do hormônio 17 α -hidroxiprogesterona.

Grupos de fêmeas, pertencentes ao protocolo A e B, foram selecionadas para coleta de sangue e análise do 17α -hidroxiprogesterona e obedeceu o seguinte calendário amostral: 'tempo 0' (amostras coletadas antes da primeira dosagem hormonal), tempo 12' (amostras coletadas 12 horas após a primeira indução) e 'tempo 24' (amostras coletadas 24 horas após a primeira injeção)

Na coleta utilizou-se seringa heparinizada e agulha 20G de tamanho. Do pedúnculo caudal foi retirado 1ml de sangue, que logo em seguida foi centrifugado a 3.000 rpm por quinze minutos. Após a centrifugação, congelou-se o plasma sanguíneo à -15°C , até a análise hormonal.

Os níveis do hormônio 17α -hidroxiprogesterona (17α OH-P) plasmático foram determinados por meio do método de radioimunoensaio (RIE) em fase sólida, com hormônio marcados com ^{125}I , utilizando-se kits comerciais Coat-A-Count, da *Diagnostic Products Corporation* (DPC).

Os dados obtidos foram analisados através dos métodos estatísticos descritivos e analíticos. Nas análises comparativas utilizou-se o Teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pesos dos peixes, as dosagens hormonais utilizadas e os efeitos do LHRH comum sobre a ovulação do tambaqui nos fotoperíodos A e B, estão indicados nas tabelas 01 e 02, respectivamente. Conforme mostram os resultados, nenhuma ocorrência de ovulação foi observada nas fêmeas do fotoperíodo A, enquanto todas as fêmeas do fotoperíodo B, ovularam.

Quanto à variação plasmática do 17α -hidroxi-progestetrona nas fêmeas pertencentes ao fotoperíodo A, o valor médio antes da primeira indução do LHRH foi de 0,05 ng/ml do plasma, aumentou para 45,57 ng/ml após 12 horas e diminuiu para 20,75 ng/ml após 24 horas, dentro do considerado período de latência do hormônio indutor (Tabela 03). No fotoperíodo B, porém, o valor médio inicial foi de 0,31 ng/ml do plasma, aumentou para 38,66 ng/ml após 12 horas e continuou aumentando até o nível médio de 56,84 ng/ml, após 24 horas (Tabela 04). Houve diferença significativa entre os níveis hormonais antes e depois da primeira injeção hormonal em ambos fotoperíodos e entre as fêmeas pertencentes aos fotoperíodos A e B, no tempo 24.

No sistema reprodutivo de peixes teleósteos, a hormônio liberador da gonadotropina estimula a liberação do GTH armazenado na hipófise, que por sua vez induz a síntese e a liberação dos esteróides sexuais, dentre esses a testosterona, o 17α -hidroxiprogestetrona (17α -OH-p), sintetizado nas células espaciais da teca do folículo ovariano. Esse hormônio é transformado no 17α , 20β -dihidroprogesterona (17α , 20β diOH-p) nas granulosa sob a ação da enzima 20β -dihidroxiesteroideshidrogenase. Esse último hormônio constituiu-se num dos MIS (*maturational induced steroids*) mais importantes no processo da ovulação em peixes teleósteos, pois também é co-responsável pela ocorrência de fase 'GVBD' (quebra da vesícula germinativa: sigla em Inglês de *germinal vesicle breakdown*), que logo precede ação ovulatória.

As figuras 02 e 03 mostram a variação do hormônio 17α -hidroxiprogestetrona plasmático nas fêmeas pertencentes ao fotoperíodo A e B, linhas de tendência e os coeficientes de determinação (r^2). Diferente do fotoperíodo A, a variação do hormônio nas fêmeas do fotoperíodo B foi sempre ascendente, o que provavelmente favoreceu o desencadeamento do processo ovulatório, após a inversão do fotoperíodo no momento da primeira injeção hormonal. Os resultados apontam para a existência de um "gatilho fotoperiódico" quando a ovulação no tambaqui é induzida com o LHRH comum.

Variações de sGnRH (hormônio liberador da gonadotropina de salmão) foram temporariamente correlacionados com os níveis de GTH I (gonadotropina vitelogenética) e

GTH II (gonadotropina maturacional) da pituitária e plasmática, seguidas por alterações fotoperiódicas da maturação gonadal. (AMANO, 1994 e DAVIES *et al*, 1999). Vários estudos apontam para a influência da melatonina no processo da maturação gonadal de peixes teleósteos (BROMAGE, 2001). Similar às aves, a melatonina plasmática de peixes apresenta uma variação circadiana, pois é alta durante o dia e baixa durante a noite. Embora os recentes estudos apontem para uma influência da melatonina na maturação gonadal de peixes, a importante pergunta que ainda permanece é como os sistemas endógenos circadianos e circanual interagem com a função reprodutiva dos peixes, inclusive o tambaqui.

Vários relógios-biológicos genéticos têm sido identificados em muitos mamíferos. Contudo, o envolvimento desses genes no controle da função circadiana e circanual da melatonina ainda não é conhecido. (Brierley, et al. 1999 *apud* BROMAGE 2001).

AGRADECIMENTOS

À Estação de Aqüicultura Continental, do Departamento de Pesca e Aqüicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo apoio à realização do presente experimento e ao Departamento de Biofísica da Universidade Federal de Pernambuco, pelas análises hormonais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMANO, M. *et al*. 1994 Salmon gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin are involved in precocious maturation induced by photoperiod manipulation in underyearling male masu salmon, *Oncorhynchus masu*. **General Comparative Endocrinology**, 95(3) : 368-37.

BROMAGE, N. ; PORTER, M. ; RANDALL, C. 2001 The environmental regulation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 197(1-4) : 63-98.

DAVIES, B. ; BROMAGE, N. ; SWANSON, P. 1999 The brain-pituitary-gonadal axis of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Effects of photoperiod manipulation. **General Comparative Endocrinology**, 115(1) : 155-166.

GOULDING, M. ; CARVALHO, M.L. 1982 Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, characidae): An important Amazonian foodfish. **Revista Brasileira de Zoologia**, Viçosa,1(1) : 107-138.

MATSUYAMA, M. ; YOSHIHIDE, H. ; MATSUURA, S. 1990 Effects of steroids on germinal vesicle breakdown in vitro of intact follicles in the japonese whiting, *Sillago japonica*, a marine teleost. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Elmsford, v. 96(2) : 257- 261.

PEREZ, C.J.B. 2003 Novas metodologias de ovulação induzida no tambaqui, *Colossoma macropomum*, com o LHRH comum (gonadorrelina) Rel. Tecn. Est. Aqüicultura/UFRPE,Recife, 8p.

SANTOS, A.J.G.; CARMO, J.L.; WALSLEY, S.M. 1991 Efeitos do LHRH na ovulação induzida do tambaqui *Colossoma macropomum* e do curimatá pacu *Prochilodus marginivittatus*. **Anais XII Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca**. Santos, São Paulo, p.103-110.

SHERWOOD, N. *et al.* 1983 Characterization of a teleost gonadotropin releasing hormone. **Proceedings Natural Academy Science**, 80(9) : 2794-2748.

VENTUERI, R. ; BERNARDINO, G. 1999. Hormônios na reprodução artificial de peixes. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, n.55(9) : p. 39-49.

YARON, Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. **Aquaculture**, n. 129(1-4) : 49-73.

YOUNG, G. ; ADASHI, S. ; NAGAHAMA, Y. 1986. Role of ovarian thecal and granulosa layers in gonadotropin-induced synthesis of a salmonid maturation-inducing substance ($17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one). **Developmental Biology**, San Diego, v. 118(1) : 1-8.

ZANUY, S. ; CARRILLO, M. 1987 La reproducción de los teleosteos y su aplicación en acuicultura. In: MONTEROS, J.E. ; LABARTA, U. (Ed). **Reproducción en Acuicultura**. Madrid, Industrias gráficas España, p. 1- 132.

ZOAR, Y. ; MYLONAS, C.C. 2001 Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. In: WORKSHOP HOSTED, 1999, Amsterdam. **Proceedings...** Amsterdam: Elsevier, p. 99-136.

REFERÊNCIAS

- AMANO, M. et al. Salmon gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin are involved in precocious maturation induced by photoperiod manipulation in underyearling male masu salmon, *Oncorhynchus masu*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 95, p. 368-373, 1994.
- ARAÚJO-LIMA, C. ; GOULDING, M. **Os frutos do tabaqui: Ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**, Brasília: CNPQ, 1998.
- BALDISSEROTTO, B. Reprodução. In: **Fisiologia de peixes aplicado à piscicultura**. Santa Maria: UFSM, 2002. cap. 6, p. 109-138.
- BOICHIO, A.M.P. Produção pesqueira em Porto Velho, Rondônia (1984-89) -alguns aspectos ecológicos das espécies comercialmente relevantes. **Acta Amazônica**, Manaus, v.22, p.163-172, 1992.
- BRITSKI, H.A. Sobre o Gênero *Colossoma* (Pisces, Characidae). **Ciência e Cultura**. São Paulo, v.29, p.810, 1977.
- BROMAGE, N. ; PORTER, M. ; RANDALL, C. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. **Aquaculture**, Amsterdam, v.197, p. 63-98, 2001.
- CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189 p.
- CASTAGNOLLI, N. ; TORNIOLO, G.M. Desova induzida de peixes reofílicos. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 337-343, 1980.
- CURY, M.X. ; TSUKAMOTO, R.Y. A utilização de LHRH comum (gonadorrelina) na reprodução induzida do pacu *Colossoma mitrei*, Berg, em condições de campo (Pisces, Serrassalmidae). In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO, 6. ; SIMPOSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 5. ,1986, Florionópolis. **Anais...** Florionópolis: [s.n], 1986,
- DAVIES, B. ; BROMAGE, N. ; SWANSON, P. The brain-pituitary-gonadal axis of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Effects of photoperiod manipulation. **Gen. Comp. Endocrinol.** 115, p. 155-166, 1999.
- DUNCAN, N.J. et al. Effects of controlled delivery and acute injections of LHRHa on bullseye puffer fish (*Sphoeroids annulatus*) spawning. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 218, p. 625-635, 2003.
- FLEMING, W.W. **Mecanismo de Ação de Drogas**. In: Farmacologia Moderna. cap. 2, Ed. Roca, São Paulo. 1986.
- FORSBERG, B. et al. Autotrophic carbon sources for fish of the central Amazon. **Ecology**, Tempe, v. 74, p. 643-652, 1993.

GERY, J. Notes de characology neotropicaly. Progres dans la systematique des genres *Colossoma* et *Piaractus*. **Revue Francaise d'Aquariologie Herpetologie**, Nancy, v.12, p. 97-102, 1986.

GOULDING, M. ; CARVALHO, M.L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): An important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, Viçosa, MG, v.1, p. 107-133, 1982.

HADDY, J.A. ; PANKHURST, N.W. The efficacy of exogenous hormones in stimulating changes in plasma steroids and ovulation in wild black bream (*Acanthopagrus butcheri*) is improved by treatment at capture. **Aquaculture**, Amsterdam, v.191, p.351-366, 2000.

HARDY, E.R. Changes in species composition of cladocera and food availability in a floodplain lake, lago jacaretinga, Central Amazon, **Amazoniana**, Manaus, v.12, p.155-168, 1992.

HOAR, H.R. Reproduction. In: HOAR, H.R ; HANDALL, D.J. Fish Physiology. New York: Academic Press, 1969. cap 1, p. 1-72.

HONDA, E.M.S. Contribuição ao conhecimento da biologia de peixes do Amazonas II- Alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Acta Amazônica**, Manaus, v.4, p. 47-53, 1974.

HOVELL, R.A. ; BERLINSKY, D.L. ; BRADLEY, T.M. The effects of photoperiod manipulation on the reproduction of black sea bass, *Centropristes striata*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 218, p. 651-669, 2003.

HOWELL, R.G. ; BENEFIELD, R.L. ; MAMBRETTI, J.M. Records of pacu (*Colossoma spp*) and piranhas (*Serassalmus spp*) in Texas: Manegement des series-Texas Park and wildlife Department. Texas, 1991. v. 70, p. 1-4

ISEKI, K.K. Variações endócrinas durante o ciclo reprodutivo do pacu "piaractus mesopotamicus: efeito da manipulação da temperatura e da fotofase".2002. 96p. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.

KUBITZA, F. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e de outros peixes redondos. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 82, p.27-37, mar/abr, 2004 a.

KUBITZA, F. **Reprodução e larvicultura de peixes tropicais**. Jundiaí: [s.n.] 2000 b.

KUBITZKI, K. ; ZIRBURSKI, A. Seed dispersal in floodplain Forest of Amazonia. **Biotropica**, Washington, v.26, p. 30-43, 1994.

LIMA, C. A. ; GOULDING, M. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo no Amazonas. Brasília: CNPq, 1998. p. 8-20

LIN, H.R. et al. Effects of gonatropin-releasing hormone (GnRH) analogs and sex steroids on growth hormone (GH) secretion and growth in common carp (*Cyprinus carpio*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 135, p. 173-184, 1995.

LOVSHIN, L.L. The Colossomids. In: NASH, C.E. ; NOVOTNY, A.J. (Ed). World animal science: production of aquatic animals: fishes. Amsterdam: **Elsevier Science**, 1995, p. 153-159

MACHADO-ALLISON, A. Estudios sobre la subfamilia *Serrasalminae* (Teleostei, Characidae) Parte I. Estudio comparado de los juveniles de las cachamas de Venezuela. **Acta Biológica Venezolana**, Caracas, v.11, p. 1-101, 1982.

MANICHAM, P. ; JOY, K.P. Induction of manipulation and ovulation by pimozide-LHRH analogue treatment and resulting high quality egg production in the Asian catfish, *Clarias batrachus* (L.), **Aquaculture**, Amsterdam, v.83, p.193-199, 1989.

MATSUYAMA, M. ; YOSHIHIDE, H. ; MATSUURA, S. Effects of steroids on germinal vesicle breakdown in vitro of intact follicles in the Japanese whiting, *Sillago japonica*, a marine teleost. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Elmsford, v. 96, p.257-261, 1990.

MENEZES, R.S. O método de hipofiseação de peixes na piscicultura. **Vamos para o campo**, São Paulo, v.14, n.160, p. 34-44, 1943.

MERONA, DE B. ; BITTENCOURT, M.M. A pesca na Amazônia através dos desembarques no mercado de Manaus: resultados preliminares. **Memória de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle**, Caracas, v. 48, p. 433-453, 1988.

MOREHEAD, D.T. ; PANKHURST, N.W. ; RITAR, A.J. Effect of treatment with LHRH analogue on oocyte maturation, plasma sex steroid level and egg production in female striped trumpeter *Latris lineata* (Latrididae). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 169, p. 315-331, 1998.

MUHAMMED, A. ; DILER, I. ; SARI, M. Introduction and synchronization of ovulation in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, by administration of emulsified buserelin (GnRH_a) and its effects on egg quality. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 237, p. 475-484, 2004.

MYLONAS, C.C. ; HINSHAW, J.M. ; SULLIVAN, C.V. GnRH_a-induced ovulation of brown trout (*Salmo trutta*) and its effects on egg quality. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 106, p. 379-392, 1992.

MYLONAS, C.C. et al. Multiple spawning and egg quality of individual European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) females after repeated injections of GnRH_a. **Aquaculture**, Amsterdam, v.221, p. 605-620, 2003.

NAKATANI, K. et al. **Ovos e larvas de peixes de água doce**: desenvolvimento e manual de identificação. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001.

PETREIRE JR, M. Pesca e esforço de pesca no Estado do Amazonas. Esforço e captura por unidade de esforço. **Acta Amazônica**, Manaus, v.8, p. 439-454, 1978.

PINHEIRO, A.R.C. Biologia pesqueira do tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier,1818), capturado no município de Tefé, Estado do Amazonas. Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Pesca). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1985.

PRAT, F. ; ZANUY, S. ; CARRILO, M. Effect of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRHa) and pimoziide on plasma level of sex steroids and ovarian development in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) **Aquaculture**, Amsterdam, v. 198, p.325-338, 2001.

RICHTER, C.J.J. et al The effect of pimoziide/LHRHa and 17 α -hidroxyprogesterone on plasma steroid level and ovulation in the African catfish, *Clarias gariepinus*, **Aquaculture**, Amsterdam, v. 63, p. 157-168, 1987.

SANTOS, A.J.G. et al Photoperiodic determination of preovulatory gonadotropin surge onset time in the carp, *Cyprinus carpio*. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokio, v.52, n. 7, p. 1167-1172, 1986a.

SANTOS, A.J.G. et al Plasma gonadotropin and steroid hormone profiles during ovulation in the carp, *Cyprinus carpio*. **Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tóquio, v. 52, n. 1, p. 1167-1172, 1986b.

SANTOS, A.J.G. ; CARMO, J.L. ; WALSLEY, S.M. Efeitos do LHRH (natural sintético) na ovulação induzida do tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) e Curimatá pacu (*Prochilodus marginatus*, wibaum).In CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA.1991, Santos. Anais...Santos: [s.n.] 1991.p. 103-110.

SATO, Y. et al Induced reproductive responses of the neotropical anostomid fish *Leporinus elongatus* Val. Under captive breeding. **Aquaculture Researching**, Oxford, v.31, p. 189-193, 2000.

SHERWOOD, N. et al Characterization of a teleost gonadotropin releasing hormone. **Proceedings of National Academy of Science**, Washington, v, 80, p. 2794-2748, 1983.

SIDDIK, Z.H. ; PORTER, M. ; RANDAL, C. **Absorção e distribuição de drogas**. In: Farmacologia Moderna. Cap. 3. Ed. Roca, São Paulo. 1986.

SILVA, M.C. ; PINHEIRO, J.L.P. Cultivo de *Colossoma* na CODEVASF (situação atual). In: HERNANDEZ, R.A.(Ed). **Cultivo de Colossoma**.Bogotá: Ed. Guadalupe, 1989.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Análise da seletividade alimentar em larvas de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e tambacu (híbrido, pacu-*Piaractus mesopotamicus* e tambaqui-*Colossoma macropomum*) sobre organismos zooplancctônicos. **Acta Limnológica Brasiliensia**, São Carlos, v.6, p. 114-132, 1993

SLATER, C.H. ; SCHRECK, C.B. ; AMEND, D.F. GnRH α injection accelerates final maturation and ovulation/spermiation of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in both fresh and salt water. **Aquaculture**, Amsterdam, v.130, p. 279-285, 1995.

TORREALBA, L.A. **Estudio histológico del tracto gastrointestinal de la cachama (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818)**.1982. Tese de Doutorado, Universidad Central de Venezuela, Caracas, 1982.

TSUKAMOTO, R. Reprodução induzida no pacu com LHRH comum (gonadorrelina) em condições de campo. **CONGRESSO BRASILEIRO DE AQUICULTURA**, 5. , Florianópolis. Anais...Florianópolis, [s.n.], 1988p.

VAZZOLLER, A.E.A.M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM. 1996, p.169

VENTUERI, R. ; BERNARDINO, G. Hormônios na reprodução artificial de peixes. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 9, n.55, p. 39-48, set/out. 1999.

WAYNAROWICH, E. ; HORVATH, L. **A propagação de peixes de águas tropicais: manual de extensão**. BRASÍLIA; FAO/CODEVASF/CNPq, 1989. 225 p.

WOOTTON, R.J. Introduction: strategies and tactics in fish reproduction. In: POTIS, G.W. ; WOOTTON, M.N. (Ed) **Fish reproduction: strategies and tactics**. London: Academic Press, 1989. 410 p.

YARON, Z. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. **Aquaculture**, Amsterdam, 129, p. 49-73, 1995.

YOUNG, G. ; ADSHI, S. ; NAGAHAMA, Y. Role of ovarian thecal and granulosa layers in gonadotropin-induced syntheses of a salmonid maturation- inducing substance (17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one). **Developmental Biology**, San Diego, v. 118, p. 1-8, 1986.

ZANIBONE FILHO, E. **Incubação, larvicultura e alevinagem do tambaqui (*Colossoma macropomum*)**.1992. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 1992.

ZANUY, S. ; CARRILLO, M. **La reproducción de los teleosteos y su aplicación en acuicultura: plan de formación de técnicos superiores en Acuicultura**. Madrid, 1987. 318p.

ZOAR, Y. ; MYLONAS, C.C. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones genes. In: WORKSHOP HOSTED,1999, Amsterdam. **Proceedings...** Amsterdam: Elsevier, 2001 p. 99-136

ANEXOS

TABELA 1 - PESO DAS FÊMEAS*, DOSAGENS HORMONAIIS USADAS NAS FÊMEAS DO FOTOPERÍODO A E OCORRÊNCIA DA OVULAÇÃO

Fotoperíodo A						
Testes	Fêmeas	Peso (kg)	Dosagem total (µgLHRH/peixe)	(µgLHRH/peixe) 1º dose	(µgLHRH/peixe) 2º dose	Ovulação
A	1	12,5	700 - (56)**	250	450	-
	2	16,3	700 - (43)	250	450	-
B	1	12,7	750 - (59)	250	500	-
	2	9,5	750 - (79)	250	500	-
C	1	10,8	1150	450	700	-
	2	11,5	1050	400	650	-
D	1	12,5	950	350	600	-
	2	13,5	850	350	500	-
	Controle	14,0	-----	-----	-----	-
	Controle	15,5	-----	-----	-----	-

* O peso dos machos não foi mensurado e a quantidade do LHRH foi administrada segundo o estado gonadal.

** Número em parênteses significa µgLHRH/kg.

TABELA 2 - PESO DAS FÊMEAS*, DOSAGENS HORMONAIIS USADAS NAS FÊMEAS DO FOTOPERÍODO B E OCORRÊNCIA DA OVULAÇÃO

Fotoperíodo B						
Testes	Fêmeas	Peso (kg)	Dosagem total (µgLHRH/peixe)	(µgLHRH /peixe 1 ^o dose	µgLHRH/peixe) 2 ^o dose	Ovulação
E	1***	14,7	500 - (34)**	500	-----	+
	2***	12,5	500 - (40)	-----	-----	+
	3	10,6	850 - (80)	-----	500 530	+
F	1	12,5	1000 - (80)	400	600	+
	2	15,0	1200 - (80)	450	750	+
	Controle	13	-----	-----	-----	-
	Controle	15,5	-----	-----	-----	-

* O peso dos machos não foi mensurado e a quantidade do LHRH foi administrada segundo o estado gonadal.

** Número em parênteses significa µgLHRH/kg.

*** Dosagem única.

TABELA 03 - VARIAÇÃO DA PROGESTERONA (17A OH-P EM NG/ML) DE FÊMEAS PERTENCENTES AO FOTOPERÍODO A, NOS TEMPOS 0, 12 E 24 HORAS APÓS A PRIMEIRA INDUÇÃO DO LHRH

Peixe	0 hs	12 hs	24 hs
♀	0,08	33,69	25,49
♀	0,06	55,11	23,61
♀	0,05	51,06	21,19
♀	0,03	45,57	12,72
Média	0,05 ^a	45,57 ^b	20,75 ^c
Dp	0,02	8,06	4,88

Obs. Nos dois peixes controles, não foi possível analisar a quantidade do hormônio ao longo do experimento, exceto no 'tempo 0', que foram 0,07^a e 0,05^a ng/mL. As letras mostram se existem diferenças estatísticas ($\alpha = 0,05$).

TABELA 4 - VARIAÇÃO DA PROGESTERONA (17A OH-P EM NG/ML) DE FÊMEAS PERTENCENTES AO FOTOPERÍODO B, NOS TEMPOS 0, 12 E 24 HORAS APÓS A PRIMEIRA INDUÇÃO DO LHRH

Peixe	0	13	24
♀	0,71	30,01	62,02
♀	0,09	42,41	51,65
♀	0,12	43,56	-----
média	0,31 ^a	38,66 ^b	56,84 ^c
dp	0,28	6,13	5,18

Obs. Nos dois peixes controles, não foi possível analisar a quantidade do hormônio ao longo do experimento, exceto no 'tempo 0', que foram 0,05^a e 0,07^a ng/mL. As letras mostram se existem diferenças estatísticas ($\alpha = 0,05$).

FIGURA 1 - CALENDÁRIO DAS INJEÇÕES HORMONAIS NOS TAMBAQUIS E ESTIMATIVAS DOS MOMENTOS DE OVULAÇÃO NOS FOTOPERÍODOS A E B.
 (*) SIGNIFICA MOMENTO DO ACASALAMENTO.

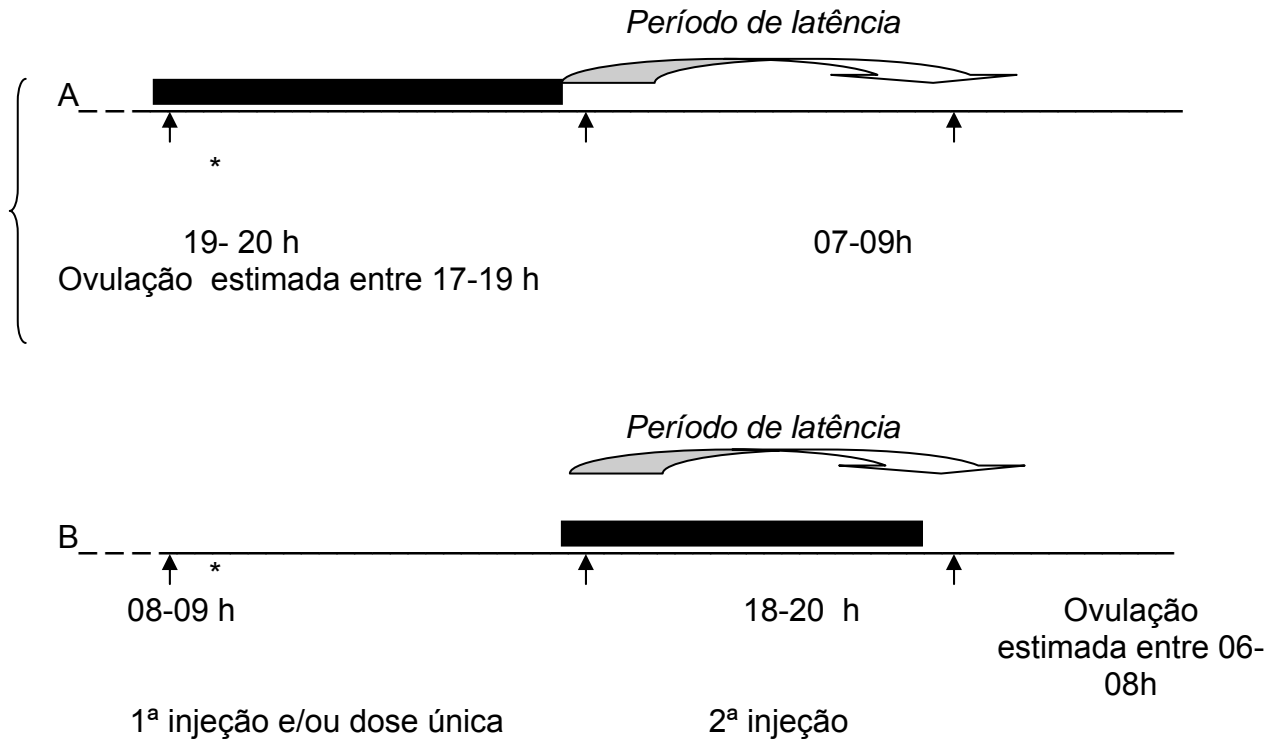


FIGURA 2. VALORES MÉDIOS DO 17A OH-PROGESTERONA PLASMÁTICO NAS FÊMEAS DE TAMBAQUI DO FOTOPERÍODO A, ANTES E APÓS A INDUÇÃO À OVULAÇÃO COM O LHRH COMUM.

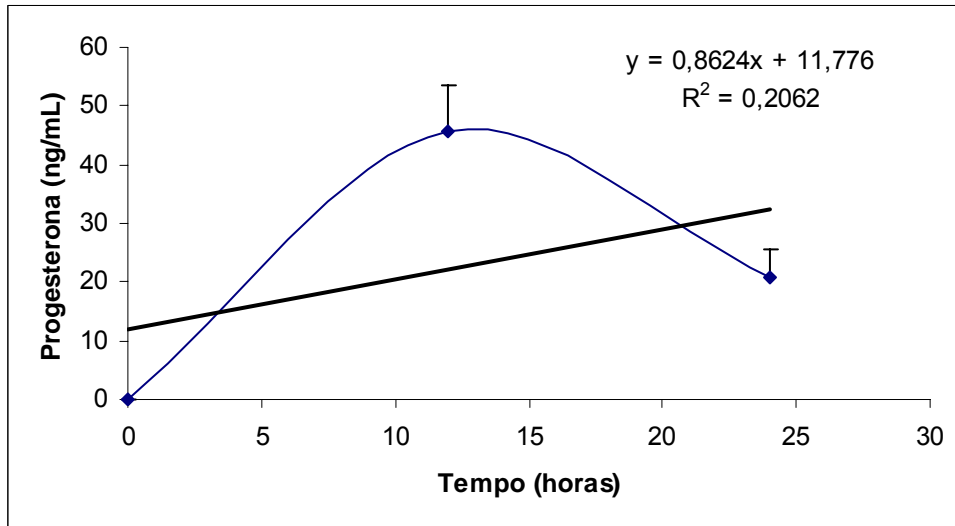
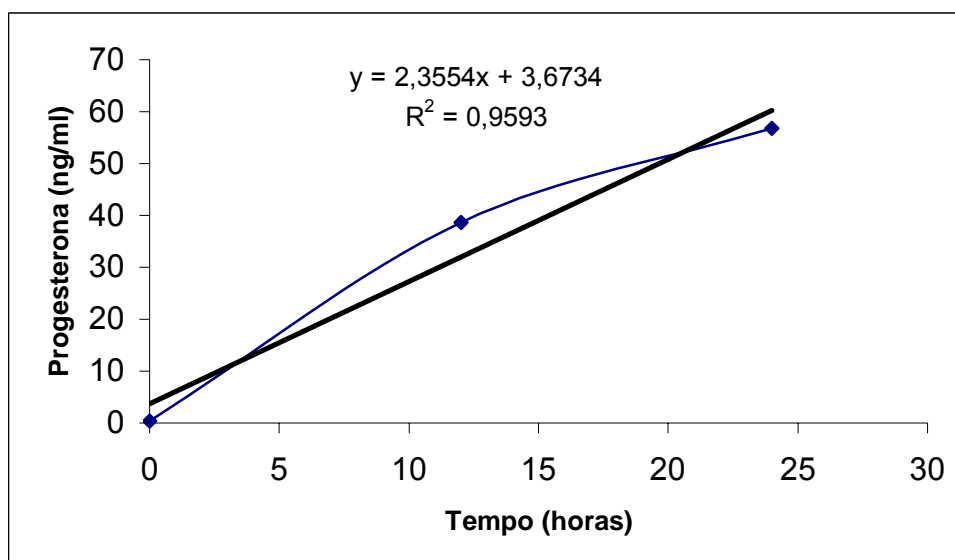


FIGURA 3. VALORES MÉDIOS DO 17A OH-PROGESTERONA PLASMÁTICO NAS FÊMEAS DE TAMBAQUI DO FOTOPERÍODO B, ANTES E APÓS A INDUÇÃO À OVULAÇÃO COM O LHRH COMUM.



NORMAS DO BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

O **BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA** tem por objetivo a divulgação de trabalhos científicos inéditos, relacionados a Pesca, Aqüicultura e Limnologia. É publicado 01 volume por ano, com o necessário número de tomos.

Os trabalhos publicados no *Boletim do Instituto de Pesca* são: Artigo Científico, Nota Científica, Artigo de Revisão ou Relato de Caso. Podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol e devem conter os seguintes itens:

TÍTULO: Deve ser claro e conciso, redigido em português e inglês e, se for o caso, também em espanhol. Havendo necessidade de título longo, recorrer a subtítulo. Deve ser apresentado em letras maiúsculas. No caso de recebimento de auxílio para a execução do trabalho, informar no rodapé da página, por meio de asterisco, também aposto ao final do título.

NOME(s) DO(s) AUTOR(es): Deve(m) ser apresentado(s) por extenso, na ordem direta (prenome e sobrenome) e em letras maiúsculas apenas o sobrenome pelo qual o(s) autor(es) deve(m) ser identificado(s). A filiação do(s) autor(es), bem como o endereço completo para correspondência e o e-mail, deverão ser colocados no rodapé da primeira página, sendo identificados por números arábicos.

RESUMO + Palavras-chave: É obrigatório em qualquer tipo de trabalho. O Resumo deve conter concisamente o que foi feito, os resultados obtidos e a conclusão. Número máximo de palavras: **no resumo** - para Artigo Científico e Artigo de Revisão, 250 (duzentas e cinquenta); para Nota Científica e Relato de Caso, 150 (cento e cinquenta); **em palavras-chave**, 6 (seis) palavras, incluindo nomes científicos, se necessário. Resumo + Palavras-chave em português e inglês (Abstract + Key words) são obrigatórios, independente do idioma em que o trabalho esteja redigido.

INTRODUÇÃO: Contém revisão da literatura relativa ao tema do trabalho e objetivo do mesmo.

MATERIAL E MÉTODOS

RESULTADOS: Podem ser apresentados sob a forma de tabelas e/ou figuras, quando necessário. Tabelas devem ser numeradas com algarismos arábicos e encabeçadas pela respectiva legenda; os dados apresentados nesta não devem ser repetidos em gráfico, a não ser quando absolutamente necessário. Gráficos, desenhos, mapas, fotografias etc., nunca ultrapassando as medidas 16x21 cm, devem ser encaixados no texto, citados como figura e numerados, consecutivamente, com algarismos arábicos, com título autoexplicativo abaixo. Desenhos, mapas e fotografias devem ser apresentados no original e em arquivos distintos, preferencialmente em formato digital "tiff". Ex.: *nome do arquivo.tif*. Figuras coloridas poderão ser incluídas somente em casos estritamente necessários.

DISCUSSÃO: Resultados e Discussão podem constituir um capítulo único.

CONCLUSÃO(ões): Discussão e Conclusão também podem constituir capítulo único.

AGRADECIMENTOS: É opcional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1 - NO TEXTO

- Usar o sistema Autor/Data, ou seja, o sobrenome do(s) autor(s) (em letras maiúsculas) seguido(s) do ano em que a obra foi publicada. Assim:

Para um autor: MIGHELL (1975) observou...; Segundo AZEVEDO (1965), a piracema...; Estas afirmações foram confirmadas em trabalhos posteriores (WAKAMATSU, 1973).

Para dois autores: ROSA JÚNIOR e SCHUBART (1980), pesquisando... (Se o trabalho em que os dois autores estão sendo citados estiver redigido em português, inglês ou espanhol, usar **e**, **and** ou **y**, respectivamente, ligando os sobrenomes dos autores.).

Para três ou mais autores: O sobrenome do primeiro autor deve ser seguido da expressão “*et al.*”. Assim: SOARES *et al.* (1978)

constataram... ou Tal fato foi constatado na África (SOARES *et al.*, 1978).

- Ainda, quando for absolutamente necessário referenciar um autor citado em trabalho consultado, o nome desse autor será referido apenas no texto (em letras minúsculas), indicando-se, entre vírgulas e precedido da palavra latina *apud*, o nome do autor do trabalho consultado, o qual irá figurar na lista de referências. Ex.: “Segundo Gulland, *apud* SANTOS (1978), os coeficientes...”.

2 - NA LISTAGEM BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Documentos impressos*

- Relacionar os trabalhos referidos no texto, com os nomes de todos os autores do trabalho separados por **e**, **and** ou **y**, se dois autores, e por ponto e vírgula, se mais de dois autores. As referências devem ser ordenadas alfabeticamente pelo último sobrenome do autor. Havendo mais de uma obra com a mesma entrada, considera-se a ordem cronológica e, em seguida, a alfabética do terceiro elemento da referência.

Exemplos:

a) Artigo de periódico

BARBIERI, G. e SANTOS, E.P. dos 1980 Dinâmica da nutrição de *Geophagus brasiliensis* (Quoy e Gaimard, 1824), na represa do

Lobo, Estado de São Paulo, Brasil. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 32(1): 87-89.

WOHLFARTH, G.W.; MOAY, R.; HULATA, G. 1983 A genotype-environment interaction for growth rate in the common carp, growing in intensively manured ponds. *Aquaculture*, Amsterdam, 33: 187-195.

b) Dissertação, tese, trabalho apresentado para obtenção de Bacharelado, etc.

GODINHO, H.M. 1972 *Contribuições ao estudo do ciclo reprodutivo de **Pimelodus maculatus** Lacépède, 1803 (Pisces, Siluroidei)*

associado a variações morfológicas do ovário e a fatores abióticos. São Paulo. 94p. (Tese de Doutorado. Instituto de Ciências Biomédicas, USP).

EIRAS, A.C. 1991 *Células sanguíneas e contagem diferencial de leucócitos de 13 espécies de teleósteos do rio Paraná - PR*. São

Paulo. 95p. (Trabalho para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas. Organização Santamarense de Educação e Cultura).

c) Livro, folheto, etc.

GOMES, F.P. 1978 *Curso de estatística experimental*. 8a ed. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". 430p.

ENGLE, R.F. e GRANGER, C.W.J. 1991 *Long-run economic relationship: readings in cointegration*. New York: Oxford University Press. 301p.

d) Capítulo de livro, publicação em obras coletivas, anais de congresso, reunião, seminário, etc.

MACKINNON, J.G. 1991 Critical values for cointegration tests. In: ENGLE, R.F. e GRANGER, C.W.J. *Long-run economic relationship: readings in cointegration*. New York: Oxford University Press. p.267-276.

AMORIM, A.F. e ARFELLI, C.A. 1977 Contribuição ao conhecimento da biologia e pesca do espadarte e agulhões no litoral sulsudeste do Brasil. In: CONGRESSO PAULISTA DE AGRONOMIA, 1., São Paulo, 5-9/set./1977. *Anais...* São Paulo: Associação de Engenheiros Agrônomos. p.197-199.

ÁVILA-DA-SILVA, A.O.; CARNEIRO, M.H.; FAGUNDES, L. 1999 Gerenciador de banco de dados de controle estatístico de produção pesqueira marítima - ProPesq. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 11.;

CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ENGENHARIA DE PESCA, 1., Recife, 17-21/out./1999. *Anais...* v.2, p.824-832.

2.2. *Informações eletrônicas* (Documentos consultados *online*, em CD-ROM, etc.)

- Utilizar as normas de referência de *documentos impressos*, acrescentando o endereço eletrônico em que o documento foi consultado.

Exemplos:

FLORES, S.A. y HIRT, L.M. 2002 Ciclo reproductivo y fecundidad de *Pachyurus bonariensis* (Steindachner, 1879), Pisces, Scianidae. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 28(1): 25-31. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br/publicações.shtml>> Acesso em: 26 ago. 2004.

CASTRO, P.M.G. (sem data) *A pesca de recursos demersais e suas transformações temporais*. Disponível em: <http://www.pesca.sp.gov.br/textos.php>. Acesso em: 3 set. 2004.

SILVA, R.N. e OLIVEIRA, R. 1996 Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., Recife, 1996. *Anais eletrônicos...* Disponível em: <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>> Acesso em: 21 jan. 1997.

TOLEDO PIZA, A.R.; LOBÃO, V.L.; FAHL, W.O. 2003 Crescimento de *Achatina fulica* (gigante africano) (Mollusca: Gastropoda)

em função da densidade de estocagem. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 55., Recife, 14-18 jul./2003. *Anais...* Recife: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. 1 CD-ROM.

OBSERVAÇÕES:

1. Os manuscritos de trabalhos devem ser digitados em Word/Windows, fonte Book Antiqua, tamanho 11, espaçamento 1,5 entre linhas, que devem ser numeradas, não ultrapassando 15 páginas em tamanho A4, incluindo figura(s) e/ou tabela(s).
2. O trabalho deve ser enviado em três vias impressas, e o(s) arquivo(s) do mesmo, em disquete ou CD-ROM.
3. O trabalho será analisado pelo Comitê Editorial do Instituto de Pesca (CEIP), segundo a ordem cronológica de recebimento, e por revisores científicos da área. Em seguida, caso necessário, retornará ao(s) autor(es) para modificações. O prazo de retorno do trabalho do(s) autor(es) ao CEIP será de 30 (trinta) dias, após o qual o trabalho será automaticamente cancelado.
4. Os originais de trabalho não aceito para publicação serão devolvidos ao(s) autor(es).
5. Os autores receberão, ao todo, 20 (vinte) separatas. Havendo interesse por maior número, as despesas correrão por conta do autor.
6. Os trabalhos não originários do Instituto de Pesca deverão ser encaminhados ao Comitê Editorial do Instituto de Pesca:
Av. Francisco Matarazzo, 455 - CEP: 05001-900 - São Paulo-SP-Brasil / Fax: (0xx11) 3871-7568
e-mail: instituto@pesca.sp.gov.br / página: www.pesca.sp.gov.br
7. Trabalho, cuja apresentação não seguir estritamente estas normas, será devolvido ao(s) autor(es).

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

The *BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA* is a scientific journal and aims to publish original papers related to Fisheries, Aquaculture and Limnology. It is a yearly publication, with the necessary number of tomes.

The articles issued by the *Boletim do Instituto de Pesca* may be categorised as follows: Research Article, Short Communication, Review Article or Case Report. They may be written in Portuguese, English or Spanish and should be composed of the following items:

TITLE: Concise and informative, written in Portuguese and English (also in Spanish, if the article is written in that language).

Long titles may need subtitles. It must be typed in capital letters. Sources of support in the accomplishment of the work should be informed in the footnote, by use of an asterisk at the end of the title.

NAME OF THE AUTHOR(S): Full names should be presented in direct order (first name and surname). Only the surname under which the author(s) may be identified should be typed in capital letters. The author(s)'s affiliation, complete mailing address and e-mail should be placed at the bottom of the first page, identified by Arabic numerals.

ABSTRACT + KEY WORDS: Mandatory in any kind of paper. The abstract should state, concisely, the study's purposes,

basic procedures, results and conclusion. It must be limited to 250 (two hundred and fifty) words for Research and Review

Articles; 150 (one hundred and fifty) words for Short Communication and Case Report. The key words must be limited to 6 (six),

including scientific names if necessary. Abstract + Key words in Portuguese and English are mandatory, independently of the language in which the paper is written.

INTRODUCTION: Should explain the theme and objective of the study based on references from the literature.

MATERIAL AND METHODS

RESULTS: May be presented as tables and/or figures when necessary. Tables should be numbered with Arabic numerals, and the respective title should be put at the top. Data should not be duplicated in graphs and tables, unless when absolutely necessary.

Charts, drawings, maps, photographs, etc., no larger than 16X21 cm, should fit in the text, be mentioned as a figure and numbered

consecutively in Arabic numerals, with a self-explanatory title below. Drawings, maps and photographs should be sent in their

original forms and in separate file(s), preferably in "tiff" digital format. E.g.: *name of the file.tif*. The publication of coloured

figures is restricted to situations where the colours are essential.

DISCUSSION: Results and Discussion may constitute a single chapter.

CONCLUSIONS: Discussion and Conclusions may also constitute a single chapter.

ACKNOWLEDGEMENTS: The acknowledgements are optional.

REFERENCES:

1- IN THE TEXT

- Use the system Author/Date: the author(s)' last name in capital letters and the year in which the article was published. For example:

One author: MIGHELL (1975) observed...; According to AZEVEDO (1965), the "piracema"...; These statements were confirmed by later studies (WAKAMATSU, 1973).

Two authors: ROSA JÚNIOR and SCHUBART (1980), researching... (If the cited article has been written in Portuguese, use

"e" linking the authors' surnames; if it has been written in English, use "and"; if in Spanish, use "y").

Three or more authors: The first author's surname should be followed by "*et al.*". Thus, SOARES *et al.* (1978) verified... or

Such fact was verified in Africa (SOARES *et al.*, 1978).

When it is absolutely necessary to refer an author cited in a consulted paper, the name of that author should be inserted only in

the text (lower case). The name of the consulted paper's author, which will be included in the reference list, should be written

between commas, and preceded by the latin word *apud*. Example: "According to Gulland, *apud* SANTOS (1978), the coefficients...".

2- ON THE REFERENCE LIST

2.1. Printed documents

- List the papers referred in the text with last names and initials of all authors separated by **e**, **and** or **y**, if two authors, or semicolon,

if more than two authors. In case of more than one article with the same entry, the chronological order should be considered.

After that, use the alphabetical order of the third element of the reference.

Examples:

a) Periodical article

BARBIERI, G. e SANTOS, E.P. dos 1980 Dinâmica da nutrição de *Geophagus brasiliensis* (Quoy e Gaimard, 1824), na represa

do Lobo, Estado de São Paulo, Brasil. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 32(1): 87-89.

WOHLFARTH, G.W.; MOAY, R.; HULATA, G. 1983 A genotype-environment interaction for growth rate in the common carp,

growing in intensively manured ponds. *Aquaculture*, Amsterdam, 33: 187-195.

b) Dissertation, thesis, paper presented in order to take Bachelor's degree, etc.

GODINHO, H.M. 1972 *Contribuições ao estudo do ciclo reprodutivo de **Pimelodus maculatus** Lacépède, 1803 (Pisces, Siluroidei)*

associado a variações morfológicas do ovário e a fatores abióticos. São Paulo. 94p.

(Tese de Doutorado. Instituto de

Ciências Biomédicas, USP).

EIRAS, A.C. 1991 *Células sanguíneas e contagem diferencial de leucócitos de 13 espécies de teleósteos do rio Paraná - PR*.

São Paulo. 95p. (Trabalho para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas. Organização Santamarensense de

Educação e Cultura).

c) Book, leaflet, etc.

GOMES, F.P. 1978 *Curso de estatística experimental*. 8ªed. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

430p.

ENGLE, R.F. and GRANGER, C.W.J. 1991 *Long-run economic relationship: readings in cointegration*. New York: Oxford

University Press. 301p.

d) Book chapter, publication in collective work, congress, meeting or seminar annals, etc.

MACKINNON, J.G. 1991 Critical values for cointegration tests. In: ENGLE, R.F. and GRANGER, C.W.J. *Long-run economic*

relationship: readings in cointegration. New York: Oxford University Press. p.267-276.

AMORIM, A.F. e ARFELLI, C.A. 1977 Contribuição ao conhecimento da biologia e pesca do espadarte e agulhões no litoral sulsudeste

do Brasil. In: CONGRESSO PAULISTA DE AGRONOMIA, 1., São Paulo, 5-9/set./1977. *Anais...* São Paulo:

Associação de Engenheiros Agrônomos. p.197-199.

ÁVILA-DA-SILVA, A.O.; CARNEIRO, M.H.; FAGUNDES, L. 1999 Gerenciador de banco de dados de controle estatístico de

produção pesqueira marítima - ProPesq□. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 11.;

CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ENGENHARIA DE PESCA, 1., Recife, 17-21/out./1999. *Anais...* v.2, p.824-832.

2.2. *Electronic references* (documents consulted online, CD-ROM, etc.)

- The rules for *printed documents* should be followed, adding the electronic address at which the document has been consulted.

Examples:

FLORES, S.A. y HIRT, L.M. 2002 Ciclo reproductivo y fecundidad de *Pachyurus bonariensis* (Steindachner, 1879), Pisces, Scianidae. *B. Inst Pesca*, São Paulo, 28(1): 25-31. Available at: <http://www.pesca.sp.gov.br/publicações.shtml>. Access on: 26 August 2004.

CASTRO, P.M.G. (no date) *A pesca de recursos demersais e suas transformações temporais*. Available at: <http://www.pesca.sp.gov.br/textos.php>. Access on: 3 September 2004.

SILVA, R.N. e OLIVEIRA, R. 1996 Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE

INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., Recife, 1996. *Anais eletrônicos...* Available at: <http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>. Access on: 21 January 1997.

TOLEDO PIZA, A.R.; LOBÃO, V.L.; FAHL, W.O. 2003 Crescimento de *Achatina fulica* (gigante africano) (Mollusca: Gastropoda)

em função da densidade de estocagem. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 55., Recife, 14-18/jul./2003. *Anais...* Recife: Sociedade Brasileira para o

Progresso da Ciência. 1 CD-ROM.

OBSERVATIONS:

1. The manuscripts should be typed in Word for Windows, font Book Antiqua, size 11, 1.5 spacing between the lines, which should be numbered. It should not be longer than 15 pages in A4 paper size, including figure(s) and/or table(s).

2. The paper should be submitted in three printed copies and a floppy disk or CD-ROM with the file(s).

3. The papers will be analysed by the Comitê Editorial do Instituto de Pesca-CEIP (Fishery Institute Editorial Board-FIEB)

and by scientific referees following chronological order. They may be sent back to the author(s) for modifications. The

authors have a deadline of 30 (thirty) days to return the paper to the CEIP (FIEB), after which it will be automatically

cancelled.

4. The papers not accepted for publication will be sent back to the author(s).

5. The author(s) will receive, in total, 20 (twenty) offprints of the paper. In case there is need of a larger number of offprints, they may be sent at the author(s)' expense.

6. The papers not originated from the Instituto de Pesca will be sent to the Comitê Editorial do Instituto de Pesca-CEIP at:

Av. Francisco Matarazzo, 455 – CEP: 05001-900 - São Paulo - SP - Brazil Fax number: (0xx11) 3871-7568

e-mail: instituto@pesca.sp.gov.br / home page: www.pesca.sp.gov.br

7. Only the papers prepared in strict accordance with these rules will be analysed by the Comitê Editorial do Instituto de

Pesca-CEIP (FIEB). Otherwise, they will be sent back to the author(s).