



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

INDUÇÃO À OVULAÇÃO DE CURIMATÃ-PACU *Prochilodus  
argenteus* AGASSIZ (1829): COMPARAÇÃO ENTRE DUAS  
TÉCNICAS DE HIPOFISAÇÃO.

JOSÉ CLÁUDIO EPAMINONDAS DOS SANTOS

RECIFE – PE

2004

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

INDUÇÃO À OVULAÇÃO DE CURIMATÃ-PACU  
*Prochilodus argenteus* AGASSIZ (1829):  
COMPARAÇÃO ENTRE DUAS TÉCNICAS DE HIPOFISAÇÃO.

José Cláudio Epaminondas dos Santos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura do Departamento de Pesca da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura (Área de concentração: Aquicultura).

Orientador: Prof. Athiê Jorge Guerra Santos, Dr.

RECIFE – PE  
Setembro de 2004

## Ficha Catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

S237i Santos, José Cláudio Epaminondas dos  
Indução à ovulação de curimatã-pacu *Prochilodus  
argenteus* Agassiz (1829): comparação entre duas técnicas de  
hipofisação / José Cláudio Epaminondas dos Santos. -- 2004.  
64 f. : il.

Orientador: Athiê Jorge Guerra Santos

Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Pesca

Referências

CDD 639.3

1. *Prochilodus argenteus*
  2. Hipofisação
  3. Comparação
  4. Técnicas
  5. Indução
  6. Ovulação
  7. Aquicultura
- I. Santos, Athiê Jorge Guerra
  - II. Título

Indução à ovulação de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829):  
comparação entre duas técnicas de hipofisacção.

Por: José Cláudio Epaminondas dos Santos.

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de:

Mestre em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura

E aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Recursos  
Pesqueiros e Aqüicultura (PPG-RPAq).

---

Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez (UFRPE)

Coordenador do PPG-RPAq

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Athiê Jorge Guerra Santos (UFRPE)

Orientador

---

Profa. Dra. Maria Teresa Jansen Almeida Catanho (UFPE)

---

Prof. Dra. Maria do Carmo Figueredo Soares (UFRPE)

---

Prof. Dr. José Milton Barbosa (UFRPE)

---

Prof. Dr. Eudes de Souza Correia (UFRPE)

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Cordeiro Miguel dos Santos e Raimunda Epaminondas dos Santos, pois sempre me apoiaram e envidaram todos os esforços necessários para me tornar um homem digno e crente em Deus.

“O que você dá, volta para você. O que você acredita a respeito de si mesmo e da vida torna-se verdadeiro para você”.

*Louise L. Hay*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, energia suprema, por me proporcionar saúde, força e humildade para alcançar os objetivos designados, estando sempre comigo em todos os momentos.

A minha mãe Raimunda Epaminondas dos Santos, meu pai Cordeiro Miguel dos Santos, minha namorada Marcela Emídio, e meus familiares, pelo apoio que sempre prestaram e por terem sido amigos incondicionais.

Ao prof. Dr. Athiê Jorge Guerra Santos pela orientação e amizade, e pelos conselhos valiosíssimos doados por grande parte de minha vida acadêmica.

A CODEVASF, através dos doutores Luiz Carlos Everton de Farias (presidente), Anderson de Vasconcelos Chaves (superintendente, 1ª SR), Expedito José Ferreira (chefe de gabinete, 1ª SR), Francilene de Barros (chefe recursos humanos, 1ª SR) e Yoshimi Sato (chefe, 1ª EPT), bem como ao pessoal dos recursos humanos sede: Luiz Fernando Salgueiro dos Santos (coordenador), Paulo Sérgio de Miranda e Vitória Maria Alves da Silva, pela oportunidade e incentivo proporcionado à realização do curso de mestrado

Ao Dr. Yoshimi Sato, em particular, pelo incentivo e apoio à execução desse trabalho, proporcionando mais um grande passo em minha vida profissional.

Ao prof. Dr. William Severi e sua esposa Verônica por terem me auxiliado nas horas difíceis e prestado grande apoio pessoal.

Ao prof. Dr. Alfredo Oliveira pela compreensão, auxílio e apoio prestados.

Ao prof. Dr. Paulo de Paula Mendes pelos conselhos e orientação na parte estatística.

Aos professores Dr. José Milton Barbosa e Dr. Eudes de Souza Correia e as professoras Dra Maria do Carmo Soares e Dra Maria Teresa Jansen de Almeida Catanho pelas sugestões apresentadas, bem como pelos auxílios prestados.

Aos Departamentos de Biofísica e de Ciências Farmacêuticas da UFPE, através da profa. Dra. Teresa Jansen e do prof. Rianze Guerra Soares, pelas análises de cortisol e de glicose, respectivamente, as quais foram de suma importância para esse trabalho.

Ao colega de trabalho Kleber Biana Santiago pelo apoio a realização prática desse trabalho.

Ao convênio CODEVASF/CEMIG pelo apoio financeiro.

Aos funcionários do Departamento de Pesca, Emília, Telma, Selma, Tânia, Eliane, Socorro e Lindinalva, pelo apoio “logístico”.

Aos funcionários da EPT/CODEVASF pelos préstimos.

Aos colegas de turma: Adriano, Ida, Marcelo, Walesca, Cibele, Bruno e Paulo pelo companheirismo e espírito de equipe.

E aos colegas: Mércia, Anderson, Sérgio, Mavíael, Elton, Aninha, bem como a todos que de alguma forma contribuíram a realização desse trabalho.

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Representação esquemática do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, ilustrando os principais eventos fisiológicos envolvidos na reprodução de peixes. Os números circulados apontam as etapas onde a intervenção artificial tem sido possível (Redding e Patiño, 1993; modificada por Sato, 1999) .....	4
Figura 2. Curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) .....	6
Figura 3. Horas-grau da curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) obtidas nos tratamentos T1 e T2, em função do comprimento total .....	18
Figura 4. Horas-grau da curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) obtidas nos tratamentos T1 e T2 em função do peso total .....	19
Figura 5. Desvios observados na coluna vertebral de larvas de Curimatã-pacu <i>Prochilodus Argenteus</i> nos tratamentos T1 e T2 .....	21
Figura 6. Perfil da concentração de glicose dos indivíduos de curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) submetidos ao tratamento simulado de dose única (TS1) .....	22
Figura 7. Perfil da concentração de glicose dos indivíduos de curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) submetidos ao tratamento simulado de duas doses (TS2) .....	23
Figura 8. Perfil da concentração de cortisol dos indivíduos de curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) submetidos ao tratamento simulado de dose única (TS1) .....	23
Figura 9. Perfil da concentração de cortisol dos indivíduos de curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) submetidos ao tratamento simulado de duas doses (TS2) .....	23

## LISTA DE TABELAS

	pág.
Tabela 1. Total de fêmeas induzidas (TFI), total de fêmeas desovadas (TFD) e taxa de fêmeas desovadas (DESOV) de curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) submetidas aos tratamentos T1 e T2 .....	17
Tabela 2. Tempo de latência mínimo, máximo, média e desvio padrão obtidos à extrusão das fêmeas de curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) submetidas aos tratamentos T1 e T2 .....	19
Tabela 3. Taxas de fertilização mínima, máxima, média e desvio padrão obtidas das fêmeas de curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) submetidas aos tratamentos T1 e (T2) .....	20
Tabela 4. Taxa de larvas deformadas mínima, máxima, média e desvio padrão obtidas das fêmeas de curimatã-pacu <i>Prochilodus argenteus</i> Agassiz (1829) submetidas aos tratamentos T1 e T2 .....	21

## SUMÁRIO

	pág.
RESUMO .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	9
2.1 Local e período .....	9
2.2 Primeira etapa: taxa de fêmeas desovadas; horas-grau; taxa de fertilização; taxa de larvas deformadas; e gastos de tempo, de água e de energia elétrica .....	9
2.2.1 Material biológico .....	9
2.2.2 Seleção das fêmeas .....	10
2.2.3 Delineamento experimental .....	10
2.2.4 Variáveis analisadas .....	11
2.3 Segunda etapa: concentrações de cortisol e de glicose .....	12
2.3.1 Material biológico .....	12
2.3.2 Seleção das fêmeas .....	13
2.3.3 Delineamento experimental .....	13
2.3.4 Variáveis analisadas .....	14
2.4 Caracterização dos ambientes .....	15
2.5 Análise estatística .....	15
3. RESULTADOS .....	17
3.1 Caracterização dos ambientes .....	17
3.2 Taxa de fêmeas desovadas .....	17
3.3 Horas-grau .....	18
3.4 Taxa de fertilização .....	19
3.5 Taxa de larvas deformadas .....	20
3.6 Consumo de tempo, de água e energia .....	21
3.7 Concentração de glicose e de cortisol .....	22

4. DISCUSSÃO .....	24
4.1 Caracterização do ambiente .....	24
4.2 Taxa de fêmeas desovadas .....	24
4.3 Hora-grau .....	27
4.4 Taxa de fertilização .....	31
4.5 Taxa de larvas deformadas .....	34
4.6 Consumo água, energia e de tempo .....	35
4.7 Taxas de glicose e de cortisol .....	36
5. CONCLUSÕES .....	39
6. REFERÊNCIAS .....	40

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi comparar duas técnicas de hipofiseação na indução à ovulação de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus*. O tratamento 1 (T1) constou da aplicação de dose única de extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC), enquanto o tratamento 2 (T2) constou de duas doses de EBHC. O experimento foi realizado em duas etapas. Na primeira, foram verificados os seguintes dados: taxa de fêmeas desovadas, hora-grau, taxa de fertilização, taxa de larvas deformadas, e os consumos de tempo, água e energia. Na segunda etapa, foram verificadas as concentrações de glicose e cortisol no plasma sanguíneo dos peixes tratados. Além dessas variáveis, foram tomados os pesos e comprimentos totais, peso do ovócito extrudido, e peso do peixe extrudido. Após tratamento estatístico verificou-se que não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos com relação às taxas de fêmeas desovadas, de fertilização e de larvas deformadas, e apenas peso e comprimento total influenciaram essas variáveis. Houve diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre as horas-grau dos tratamentos, onde o T1 elevou à hora-grau correspondente. Apenas os tratamentos influenciaram a hora-grau. O T2 incrementou os consumos de tempo, água e energia. Foram apresentados dados preliminares das concentrações de glicose e de cortisol do plasma sanguíneo. Finalmente, conclui-se que tratamento com dose única apresenta a mesma eficiência que tratamento com duas doses na indução à ovulação de curimatã-pacu.

## ABSTRACT

The objective of the present work was to compare two hypophysation techniques in the induction to the ovulation of curimatã-pacu *Prochilodus argenteus*. The treatment 1 (T1) it consisted of the application of only dose of crude carp hypophysis extract, while the treatment 2 (T2) it consisted of two doses. The experiment was accomplished in two stages. In the first, the following data were verified: rates of spawned females, hour-degree, rate of fertilization, rate of deformed larvas, and the consumptions of time, water and energy. In the second stage, the glucose concentrations and cortisol were verified in the plasma sanguine of the treated fish. Besides those you varied, the weights and lengths total, weight of the oocyte extrudido, and weigh of the fish extrudido, were taken. After statistical treatment it was verified that there was not significant difference ( $P > 0,05$ ) among the treatments with relationship to the rates of spawned females, of fertilization and of deformed larvas, and the weight and the length total just influenced those you varied. There was difference statistics ( $P < 0,05$ ) among the hour-degree of the treatments, where T1 elevated to corresponding hour-degree. The treatments just influenced to hour-degree. T2 increased the consumptions of time, water and energy. Data preliminaries of the glucose and of cortisol concentrations of the plasma sanguine were presented. Finally, it is ended that treatment with only dose presents the same efficiency that treatment with two doses in the induction to the curimatã-pacu ovulation.

## 1. INTRODUÇÃO

A reprodução de peixes teleósteos na natureza é regulada por ritmos endógenos, estimulados por sinais ambientais que determinam o período adequado à desova com uma melhor sobrevivência de sua progênie (Zanuy e Carrillo, 1987; Fonteles Filho, 1989; Baggerman, 1990 *apud* Redding e Patiño, 1993).

Basicamente, dois hormônios denominados gonadotropinas são responsáveis pelo controle do ciclo reprodutivo em peixes: hormônio gonadotrópico I (GTH I) e hormônio gonadotrópico II (GTH II) (Fontaine, 1976). O GTH I é, estruturalmente e funcionalmente, semelhante ao hormônio folículo-estimulante (FSH) e o GTH II ao hormônio luteinizante (LH), ambos dos mamíferos (Redding e Patiño, 1993). Zanuy e Carrillo (1987), argumentam que anterior à reprodução ocorre um aumento considerável do GTH II na corrente sanguínea, estimulado pelo hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH), o suficiente para estimular as gônadas a sintetizar hormônios indutores da maturação (MIS), responsáveis pela maturação final e ovulação.

Redding e Patiño (1993) consideram que os MIS são hormônios secretados pelas gônadas e que promovem a migração da vesícula germinativa ao pólo animal e, a subsequente quebra da membrana dessa vesícula com a liberação do material genético em meio ao citoplasma (maturação final do ovócito). Em seguida, os ovócitos se desprendem do folículo e são liberados para o lúmen da gônada, resultando na ovulação. Neste momento, a fêmea está pronta para desovar. Dentre os MIS, uma progestina, a  $17\alpha$ - $20\beta$  dihidroxiprogesterona é a principal responsável pelos processos finais de reprodução na maioria das espécies de teleósteos; em alguns peixes, o indutor da maturação pode ser outras progestinas ou corticosteróides (Matsuyama *et al.*, 1990).

O eixo endócrino, composto pelo hipotálamo, hipófise e gônadas, regula a síntese e a liberação daqueles hormônios na corrente sanguínea do peixe e, conseqüentemente, controla seu ciclo reprodutivo desde a gametogênese ao comportamento de desova, enquanto o sistema nervoso central (SNC) recebe e traduz para o cérebro os sinais externos advindos do meio (Fontaine, 1976; Redding e Patiño, 1993).

Entretanto, a maioria dos peixes teleósteos criados em cativeiro, notadamente as espécies reofílicas, apresentam uma disfunção no processo reprodutivo provavelmente decorrente da ausência de condições ambientais naturais propícias, sobretudo temperatura e fotoperíodo, além do estresse provocado pelo confinamento (Yaron, 1995; Zohar e Mylonas, 2001). Embora algumas espécies consigam alcançar estágios avançados de desenvolvimento gonadal quando confinadas, as etapas finais do processo reprodutivo, quais sejam: maturação final do ovócito, ovulação e desova, não se realizam nas fêmeas, enquanto machos apresentam esperma de baixa qualidade ou em pequena quantidade, prejudicando a concretização do processo natural de reprodução das mesmas (Donaldson e Hunter, 1983; Bromage, 1995).

Zohar e Mylonas (2001) apontam três tipos de disfunções que podem ocorrer durante o ciclo reprodutivo dos teleósteos quando confinados. O primeiro tipo é representado por aquelas espécies cujo processo de vitelogênese/espermatogênese não é estimulado ou é inibido. No segundo tipo, mais comum, as espécies realizam a vitelogênese/espermatogênese, mas não conseguem completar os estádios finais de reprodução (maturação final do ovócito, ovulação/espermição e desova). Os peixes que passam pela maturação final e ovulação/espermição, porém não reproduzem espontaneamente, constituem o terceiro tipo de disfunção reprodutiva.

Contudo, em função da necessidade de controlar a reprodução de peixes em laboratório e disponibilizar alevinos para executar programas de repovoamento e/ou viabilizar o cultivo comercial de espécies de importância econômica, foram desenvolvidas várias técnicas para induzir artificialmente a

reprodução de peixes, dentre elas se destaca a hipofisação. (Menezes, 1943, 1954; Harvey e Hoar, 1979; Donaldson e Hunter, 1983; Yaron e Zohar, 1993; Zohar e Mylonas, 2001).

O método da hipofisação foi desenvolvido na década de trinta, tendo como um dos seus principais precursores Rodolpho von Ihering (Menezes, 1943, 1954). Ele consiste em aplicar o extrato bruto da hipófise de um peixe doador que contenha elevada concentração de GTH II, condição encontrada em épocas de reprodução pouco antes do animal efetivar o ato reprodutivo (Ihering e Azevedo, 1936; Ihering, 1937).

A interferência realizada por meio da hipofisação ocorre no nível três do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, uma vez que atua diretamente nas gônadas e, somente é eficiente quando o peixe a ser induzido está com os ovócitos preparados, ou seja, maduros (Sato, 1999). Macroscopicamente, o peixe está pronto para receber a indução logo que a vesícula germinativa do ovócito tenha iniciado a migração para o pólo animal (Yaron, 1995).

As principais etapas envolvidas no processo reprodutivo e que tem sido passível de intervenção artificial estão resumidas na Figura 1, proposta por Redding e Patiño (1993), modificada por Sato (1999).

O método da hipofisação é empregado numa grande variedade de espécies de peixes e marcou pioneiramente o início dos trabalhos de reprodução induzida, sendo por meio da hipofisação a obtenção da primeira ovulação induzida num peixe teleósteo (Harvey e Hoar, 1979; Zanuy e Carrillo, 1987). Além disso, a hipofisação impulsionou e subsidiou uma expressiva quantidade de trabalhos de reprodução artificial, sendo ainda, amplamente empregada (Menezes, 1943; Fontaine, 1976; Chaudhuri, 1976, Harvey e Hoar, 1979; Donaldson e Hunter, 1983, Bromage, 1995; Zohar e Mylonas, 2001).

O método da hipofisação pode ser aplicado de várias maneiras, baseadas no número de hipófises por peixe vivo (menos difundido) ou no peso da hipófise por quilo de peixe vivo, mais utilizado (Castagnolli e Tornio, 1980; Woynarovich e Horváth, 1989). Contudo, verificando-se os diversos trabalhos desenvolvidos nesse sentido percebe-se que os mesmos

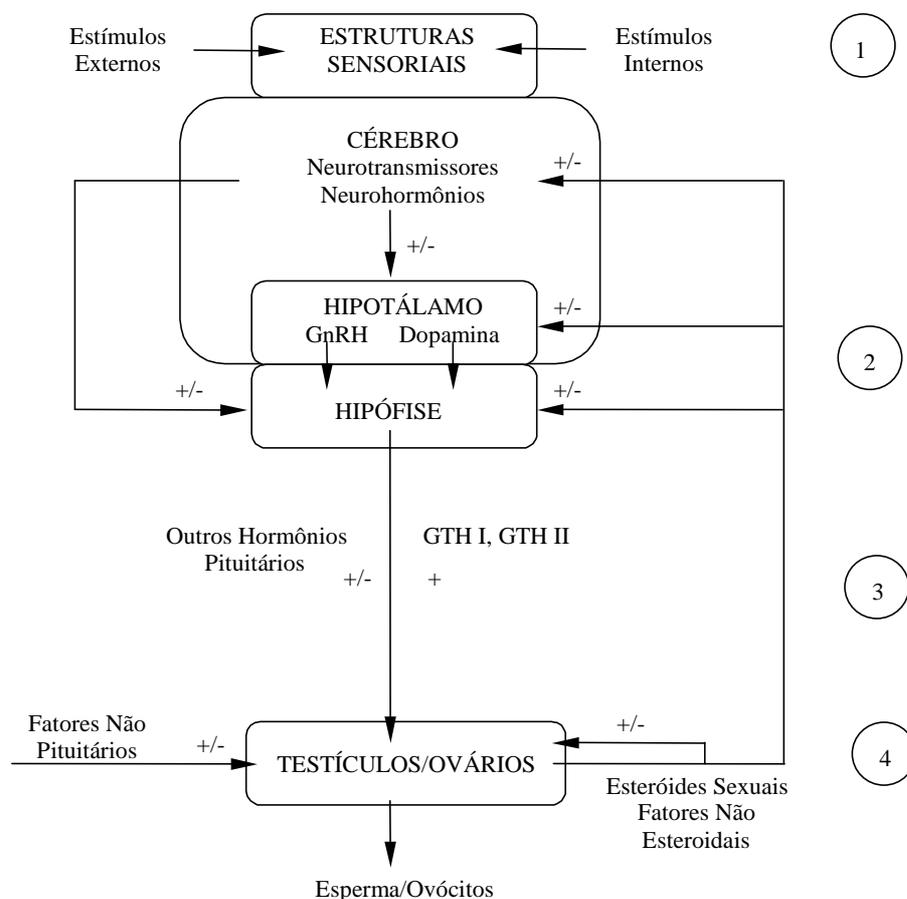


Figura 1. Representação esquemática do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, ilustrando os principais eventos fisiológicos envolvidos na reprodução de peixes. Os números circulados apontam as etapas onde a intervenção artificial tem sido possível (Redding e Patiño, 1993, modificada por Sato, 1999).

podem ser resumidos em dois tipos de tratamentos, cujo critério usado para esta classificação é o número de doses aplicadas nas fêmeas submetidas à desova induzida. (Menezes, 1954; Harvey e Hoar, 1979; Castagnolli e Torniolo, 1980; Donaldson e Hunter, 1983; Woynarovich e Horváth, 1989; Peter *et al.*, 1993; Amaral *et al.*, 1995; Yaron, 1995; Zaniboni Filho e Barbosa; 1996; Sato *et al.*, 1996a, Kouril *et al.*, 1996; Sato, 1999; Zohar e Mylonas, 2001).

Um tipo de tratamento, denominado tratamento múltiplo, reúne aqueles métodos que utilizam doses preparatórias. Dentre eles, o mais importante é o método das duas doses (uma preparatória e outra decisiva) (Baldisserotto,

2002), embora possam ser aplicadas mais de duas doses (várias preparatórias e decisivas). Outro tipo de tratamento, denominado de tratamento simples, consta da dose única.

Em geral, o método das duas doses consiste na aplicação de uma dose preparatória (primeira dose), com cerca de 10% da concentração total da dose de extrato bruto de hipófise calculada, e outra decisiva (segunda dose), que contém os 90% restante (Woynarovich e Horváth, 1989). Estes autores afirmam que a função da dose preparatória é acelerar o desenvolvimento das gônadas até o estágio de pré-ovulação ou maturação final. O método da dose única consiste na aplicação apenas da dose total calculada, ou seja, a decisiva, e somente terá sucesso se o peixe estiver bem preparado sexualmente (Woynarovich e Horváth, 1989). Nos machos é aplicada apenas uma dose junto com a segunda dose ou com a dose única da fêmea.

Atualmente, o cálculo das doses é feito conforme o peso total do indivíduo e varia amplamente de espécie para espécie, de acordo com a própria espécie e o grau de maturação do peixe (Zanuy e Carrillo, 1987).

Zanuy e Carrillo (1987) apontam como vantagens deste método: simplicidade; baixo custo e não necessita de equipamentos sofisticados; as doses podem ser facilmente calculadas; e a presença de outros hormônios no extrato hipofisário que pode ter ação sinérgica.

As espécies do gênero *Prochilodus*, historicamente, têm sido utilizadas nos trabalhos de desova induzida pelo método da hipofisação, sobretudo pela sua disponibilidade na natureza e pela facilidade de manipulação (Menezes, 1943).

A curimatã-pacu (Figura 2) pertence à ordem *Characiformes*, família *Prochilodontidae*, espécie *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) é um peixe endêmico da bacia do Rio São Francisco, e introduzido em vários rios do nordeste brasileiro (Castro e Vari, 2003).

É um peixe de piracema, sendo sua conduta migratória já evidenciada, apresenta desova total, os ovos são livres, e seu ciclo reprodutivo coincide com a estação chuvosa, principalmente entre novembro e janeiro, no alto e médio São Francisco (Sato e Godinho, 1999). Esta espécie apresenta corpo



Figura 2. Curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829).

relativamente alto, lábios espessos e protatéis, onde se inserem numerosos dentes pequenos dispostos em duas fileiras na frente dos maxilares e numa fileira lateralmente, e a nadadeira dorsal é precedida por um espinho procumbente (Britski *et al.*, 1986).

Num levantamento das espécies capturadas pela pesca artesanal na represa de Três Marias, realizado entre maio de 2000 e abril de 2001, Santos (2001) constatou que a curimatã-pacu foi espécie mais capturada dentre outras, denotando sua importância comercial na região. Sato (1999), afirma a importância desse peixe para a pesca profissional na bacia do São Francisco. Esta espécie possui a reprodução induzida dominada há algum tempo (Sato *et al.*, 1996a), sendo muito produzida em todo território nacional, sobretudo no baixo São Francisco, onde é bastante consumida.

Cabe ressaltar, que os espécimes de curimatã-pacu utilizados nesse trabalho e provenientes do alto do São Francisco foram classificados, conforme Britski *et al.* (1986), como *Prochilodus marggravii* (Walbaum, 1792).

Esta espécie, descrita por Johann J. Walbaum em 1792, atualmente está submetida a um processo de revisão e, embora essa nomenclatura seja evidenciada na página do FISHBASE ([www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)), a mesma não é considerada válida, ao menos para essa espécie, demonstrando como válida *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829). Castro e Vari (2003) descrevem a espécie curimatã-pacu encontrada na bacia do São Francisco como *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829).

Na Estação de Piscicultura de Três Marias da Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (EPT/CODEVA-

SF), foi desenvolvido um protocolo de reprodução para várias espécies da bacia do São Francisco, inclusive para a curimatã-pacu (Sato, 1999). O sucesso desse protocolo, que em geral sugere a administração de duas doses, é comprovado pela regularidade nas respostas dos indivíduos submetidos à indução, com uma acentuada eficiência na execução e na avaliação do momento da ovulação (Sato, comunicação pessoal).

Entretanto, os métodos que utilizam doses múltiplas para induzir a ovulação de peixes teleósteos impõem manipulações possivelmente desnecessárias, causando estresse adicionais aos peixes manejados, e ocorrendo, não raramente, a morte dos mesmos. Além disso, o emprego desses métodos pode se tornar num processo dispendioso, se comparado com o de dose única, pois requer maior consumo de água e de energia, sobretudo se usar aquecedor para controlar a temperatura da água. Exige, ainda, a mobilização de pessoal por maior tempo e as dificuldades encontradas em condições de campo, normalmente adversas, também podem se tornar num artifício trabalhoso.

Zohar e Mylonas (2001) observaram que o uso do tratamento múltiplo (várias doses) pode resultar na morte dos peixes após a indução, prejudicar a maturação final dos ovócitos e reduzir a qualidade dos ovos, bem como requer mais trabalho, tempo e monitoramento, principalmente em condições de campo.

O objetivo geral do presente trabalho é contribuir para aperfeiçoar o método de indução a desova de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829), utilizando-se apenas uma dose de extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC). Os objetivos específicos são comparar a eficiência da aplicação de uma única dose com a da aplicação de duas doses de EBHC, através das variáveis listadas abaixo:

- Taxa de fêmeas desovadas (%);
- Horas-grau (H°);
- Taxa de fertilização (%);
- Taxa de larvas deformadas (%);

- Consumo de água, energia e tempo;
- O estresse das fêmeas através das concentrações de glicose e de cortisol do plasma sanguíneo.

A hipótese do presente trabalho é que o emprego de uma única dose de extrato bruto da hipófise de carpa (EBHC) pode ser suficiente para induzir a ovulação de fêmeas de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829), com resultados tão eficientes quanto os resultados obtidos com emprego de duas doses de EBHC.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local e período

O experimento foi realizado em duas etapas. A primeira etapa foi conduzida nas dependências da Estação de Hidrobiologia e Piscicultura de Três Marias – EPT – da Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba – CODEVASF – Três Marias, MG, no período de 26 de dezembro de 2002 a 24 de janeiro de 2003. A segunda etapa foi executada na Estação de Aqüicultura Continental Johei Koike do Departamento de Pesca (DEPESCA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), e nos Departamentos de Biofísica e de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

2.2 Primeira etapa: mensuração da taxa de fêmeas desovadas, horas-grau, taxa de fertilização, taxa de larvas deformadas, e os consumos de tempo, de água e de energia elétrica

#### 2.2.1 Material biológico

Foram utilizados reprodutores oriundos da região do alto São Francisco, pertencentes a EPT/CODEVASF. Os peixes estavam estocados num viveiro de 200 m<sup>2</sup> de área, profundidade média de 1 m, fundo de terra e parede de alvenaria. A densidade de estocagem foi de 1 kg de peixe para 5 m<sup>2</sup> de viveiro e o alimento consistiu de ração comercial peletizada com 36% de proteína bruta, fornecida diariamente na razão de 1,5 a 2,0% da biomassa. Os indivíduos foram mantidos nessas condições por um período superior a um ano.

### 2.2.2 Seleção dos peixes

As fêmeas foram selecionadas segundo características morfológicas externas, quais sejam orifício urogenital dilatado e vascularizado e ventre abaulado, ao passo que os machos foram selecionados pela liberação de sêmen sob leve pressão abdominal e por emitirem sons (roncos) ao serem seguros com as mãos.

Os peixes selecionados foram levados ao pavilhão de reprodução, pesados e estocados em tanques de alvenaria (3,0 x 1,0 x 0,8 m), revestidos por cerâmica, com água corrente, cuja vazão média foi de 48 L/min. As fêmeas foram mantidas em tanques separadas dos machos. A temperatura da água foi mantida ao redor de 26°C, através de aquecedor (apenas para fêmeas).

### 2.2.3 Delineamento experimental

Foram utilizados dois tratamentos. O tratamento 1 (T1), composto por 18 fêmeas (peso e comprimento totais médios de  $572 \pm 235$  g e  $34,1 \pm 4,4$  cm, respectivamente), consistiu na aplicação de uma única dose de 6,0 mg de extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC) por quilo de peixe vivo. O tratamento dois (T2), composto por 24 fêmeas (peso e comprimento totais médios de  $481 \pm 153$  g e  $33,0 \pm 2,9$  cm, respectivamente), consistiu na aplicação de duas doses de 0,6 e 6,0 mg de EBHC por quilo de peixe vivo, deixando-se um intervalo de 14 a 15 horas entre as doses. Para os machos, foi aplicada dose única de 2,0 mg de EBHC por quilo de peixe vivo, quando da aplicação da dose única nas fêmeas do T1 e da aplicação da segunda dose nas fêmeas do T2.

O extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC) foi obtido através do maceramento das hipófises, junto com algumas gotas de glicerina para evitar o entupimento da agulha, seguido da adição de soro fisiológico 0,9% usado como veículo.

A administração das doses nas fêmeas foi efetuada na lateral do abdômen próximo a nadadeira pélvica enquanto nos machos foi na base das nadadeiras pélvicas.

O momento da ovulação foi pré-estabelecido através das horas-grau estimadas para a espécie, em ambos os tratamentos, e pela observação de movimentação contínua das fêmeas, a qual pode indicar que estão ovulando. Os óvulos foram obtidos por meio de extrusão, pesados e, logo em seguida, fertilizados a “seco”. Feito isso, os ovos foram hidratados por cerca de 5 a 10 minutos e depois distribuídos em incubadoras de fibra de vidro do tipo funil de 60 e 200 litros e vazões médias de 5 e 8 L/min, respectivamente. A proporção variou de 1 a 2 gramas de ovos por litro.

#### 2.2.4 Variáveis analisadas

As variáveis observadas nesta etapa foram: taxa de fêmeas desovadas, horas-grau de cada fêmea que respondeu ao tratamento, e as taxas de fertilização e de larvas deformadas. O tempo, a água e a energia consumidos para concretizar o processo de indução foram anotados. Foram tomados, também: comprimento total, peso total, peso do peixe extrudido, e peso dos ovócitos extrudidos, de cada indivíduo.

A taxa de fêmea desovada foi determinada pela razão entre o total de fêmeas que desovaram e o total de fêmeas submetidas à indução hormonal.

As horas-grau foram determinadas pela diferença entre a hora da ovulação/extrusão e a hora da última aplicação, multiplicada pela temperatura vigente.

A taxa de fertilização foi verificada por ocasião do fechamento do blastóporo, cerca de 7 - 8 horas após a fecundação, com o auxílio de um microscópio ótico. Ovos fertilizados e com desenvolvimento normal possuem aparência translúcida enquanto os não fertilizados ou com o desenvolvimento prejudicado apresentam embrião desconcertado e/ou esbranquiçado.

Para observar a taxa de larvas deformadas, foram verificadas larvas eclodidas fixadas em formol a 4%, as quais foram coletadas diretamente nas incubadoras, cerca de 18 - 20 horas após a fecundação. Tal verificação, também efetuada com o auxílio de um microscópio ótico, objetivou evidenciar deformações físicas nas larvas.

As taxas de fertilização e de larvas deformadas foram calculadas pelo quociente entre ovos normais ou larvas deformadas e o total de ovos ou larvas coletas, respectivamente. A quantidade mínima observada para determinar as taxas foi de 300 ovos ou larvas.

O tempo registrado foi o período gasto desde a aplicação da dose única do T1 ou da primeira dose do T2 até a extrusão da última fêmea do lote trabalhado. O gasto com água foi obtido pelo produto da vazão média (L/h), tomada durante os processos de indução em cada tratamento, e os respectivos tempos registrados. Os gastos com energia elétrica em ambos os tratamentos foram tomados pelo consumo da mesma em *quilowatt* por hora (kWh), porém, foram considerados apenas os consumos com os aquecedores ligados durante a reprodução.

## 2.3 Segunda etapa: avaliação das concentrações de glicose e de cortisol

### 2.3.1 Material biológico

Foram utilizadas apenas fêmeas provenientes do plantel de reprodutores da estação Johei Koike. Os indivíduos estavam estocados num viveiro escavado de terra batida com 200 m<sup>2</sup> de área e profundidade média de 1 m. A densidade de estocagem também foi de 1 kg de peixe para 5 m<sup>2</sup> de viveiro e o alimento consistiu de ração comercial peletizada (extrusada) com 28% de proteína bruta, fornecida diariamente na razão de 1,5% da biomassa. Os peixes foram mantidos nessas condições por cerca de três meses.

### 2.3.2 Seleção dos peixes

Nesta etapa, a seleção das fêmeas foi semelhante a seleção das fêmeas na primeira etapa. Os peixes selecionados também foram pesados, mensurados, marcados e levados para tanques de alvenaria (3,0 x 1,0 x 0,8m), revestidos por azulejo, com água corrente.

### 2.3.3 Delineamento experimental

Foram empregados dois tratamentos. Entretanto, as fêmeas não receberam doses de EBHC. Elas foram submetidas a processos de indução simulados, conforme os métodos de hipofiseção empregados na primeira etapa do experimento, poré receberam apenas 0,5 mL de soro fisiológico.

O tratamento simulado 1 (TS1), composto por seis fêmeas (peso e comprimento totais médios de  $701 \pm 152$  g e  $36,7 \pm 1,6$  cm, respectivamente), consistiu na simulação da aplicação de dose única, enquanto o tratamento simulado 2 (TS2), também composto por seis fêmeas (peso e comprimento totais médios de  $655 \pm 68$  g e  $35,7 \pm 1,2$  cm, respectivamente) na simulação da aplicação de duas doses. No momento da biometria, os peixes foram marcados por meio de cortes nas nadadeiras.

Algumas horas após a seleção, os peixes foram submetidos aos tratamentos supracitados. Imediatamente antes da aplicação do soro fisiológico, foram coletadas amostras de sangue, através de punção caudal, utilizando-se seringas de 3 mL previamente heparinizadas. Foi coletado de 1,5 a 2 mL de sangue de cada peixe. Amostras de sangue também foram coletadas por ocasião em que ocorreria a extrusão, ou seja, 12 horas após a aplicação da dose única no TS1 e 8 horas após a segunda dose no TS2. Além disso, os indivíduos do TS1 foram induzidos a um estresse por meio de uma manipulação adicional por cerca de 1 minuto em baldes plásticos contendo água. O sangue foi retirado logo após o estresse induzido.

O sangue coletado foi depositado em tubos de vidro contendo duas gotas de heparina e deixados em gelo até que as amostras de todos peixes fossem coletadas. O sangue coletado foi centrifugado a 2000 rpm por 15 minutos. Em seguida, o plasma heparinizado (sobrenadante) foi retirado com uma pipeta “Pasteur” e uma “pêra”.

O plasma heparinizado coletado foi subdividido em recipientes diferentes para a determinação de glicose e de cortisol. Para determinação da glicose, o plasma foi armazenado em tubos de vidro devidamente etiquetados e tampados. Para determinação do cortisol, o plasma foi armazenado em tubos criogênicos, adequadamente marcados e tampados. Todo material foi congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até serem levados para análise.

#### 2.3.4 Variáveis analisadas

Foram analisadas as concentrações de glicose e cortisol do plasma heparinizado coletado. A concentração de glicose foi determinada no Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE através do método enzimático colorimétrico, ao passo que a concentração de cortisol foi determinada no Departamento de Biofísica da UFPE pelo método do radioimunoensaio de fase sólida.

No método enzimático colorimétrico foi utilizada uma enzima específica, a glicose oxidase, para determinar a concentração de glicose da amostra (kit GLUCOX 500, Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.). Após adicionar à amostra um reagente de cor, foi efetuada a leitura da glicose com um espectrofotômetro (510 nm). O reagente de cor também foi usado para zerar o aparelho (“branco”). Uma solução padrão (solução aquosa contendo 100 mg/dL de glicose) juntamente com o reagente de cor foi utilizada para confeccionar a curva padrão do método, a qual serve para determinar a concentração da glicose existente na amostra.

No procedimento radioimunoensaio de fase sólida foi utilizado o iodo radioativo para marcar o cortisol da amostra (kit COAT-A-COUNT<sup>®</sup>, DPC Med

Lab Produtos Hospitalares Ltda). Em cada tubo foi colocado 25 µL da amostra, a qual foi analisada em duplicata. Em seguida, foi colocado 1 mL do iodo radioativo em cada tubo para marcar o cortisol. Posteriormente, os tubos foram incubados em banho-maria (37 °C) por 45 minutos. Depois, o líquido foi desprezado e o tubo foi enxugado em papel toalha para retirar resto do líquido. Finalmente, os tubos contendo cortisol marcado com iodo radioativo, foram levados para serem efetuadas as leituras num cintilador de radiação gama durante um minuto. Para confeccionar a curva padrão foram utilizados calibradores que acompanham o método. Também foram analisadas as radiações totais do iodo.

#### 2.4 Caracterização do ambiente

Na primeira etapa, a temperatura da água no tanque de reprodução foi mantida ao redor dos 26 °C, empregando-se aquecedor (apenas para as fêmeas). Foram tomadas: concentração de oxigênio dissolvido, pH, e condutividade elétrica, da água do tanque e da incubadora, usando-se o equipamento HORIBA U10. A temperatura da água da incubadora também foi tomada com termômetro de mercúrio.

Na segunda etapa, a temperatura da água no tanque de reprodução foi tomada com termômetro de mercúrio.

#### 2.5 Análise estatística

As taxas de fêmeas desovadas nos tratamentos T1 e T2, foram submetidas a testes de proporção (Mendes, 1999), de acordo com o seguinte modelo:

$$z = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{p_{1,2} \cdot q_{1,2} \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

em que:  $z$  = parâmetro de distribuição populacional;  $p_1$  = taxa do tratamento 1;  $p_2$  = taxa do tratamento 2;  $p_{1,2}$  = variância estimada entre as taxas de sucesso;  $q_{1,2}$  = variância estimada entre as taxas de fracasso;  $n_1$  = número de observações do tratamento 1; e  $n_2$  = número de observações do tratamento 2.

Para se estabelecer à relação entre os parâmetros hora-grau, taxa de fertilização e taxa de larvas deformadas com o comprimento total, peso total, peso do peixe extrudido e peso do óvulo extrudido, foi utilizado o seguinte modelo estatístico:

$$\text{Resp}^{\lambda}_i = \beta_1 \text{CT}_i + \beta_2 \text{PT}_i + \beta_3 \text{PPE}_i + \beta_4 \text{POE}_i + \beta_5 \text{T}_{1i} + \beta_6 \text{T}_{2i} + \xi_i$$

em que: Resp- hora-grau, taxa de fertilização ou taxa de larvas deformadas;  $\lambda$ - fator de transformação Box e Cox;  $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, \beta_5$  e  $\beta_6$ - parâmetros do modelo; CT- comprimento total; PT- peso total; PPE- peso do peixe extrudido; POE- peso dos ovócitos extrudidos; T1- tratamento 1 (dose única); T2- tratamento 2 (duas doses);  $\xi_i$ - erro associado a cada observação;  $i$ - iésima observação.

Para estimar os parâmetros ( $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, \beta_5$  e  $\beta_6$ ) do modelo utilizou-se a técnica dos mínimos quadrados para regressões múltiplas (Mendes, 1999). As variáveis significativas do modelo foram selecionadas pelo uso do processo *Stepwise*, associado ao transformador *Box e Cox*. O fator de transformação " $\lambda$ " de *Box e Cox* (Box e Cox, 1964) utilizado foi o simplificado e teve como objetivo maximizar o coeficiente determinístico ( $R^2$ ) e, portanto, minimizar a variância. Os tratamentos T1 e T2 foram incluídos no modelo sob forma de variável muda (0 ou 1).

Todos os testes foram efetuados com nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ), empregando-se o programa estatístico STATGRAF<sup>®</sup>, versão 7.1, exceto para taxa de fêmeas desovadas.

Não foram aplicados testes estatísticos para analisar as concentrações de glicose e cortisol no plasma sanguíneo do peixe, bem como para o consumo de tempo, água e energia. Estes dados serão apresentados de forma preliminar.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Caracterização do ambiente

Na primeira etapa, a temperatura da água no tanque de reprodução foi mantida ao redor dos 26 °C, conforme mencionado anteriormente. A concentração de oxigênio dissolvido da água variou de 7,0 a 7,4 mg/L, o pH de 6,8 a 7,3 e a condutividade elétrica de 56 a 63  $\mu$ S/cm. Estas variáveis foram tomadas usando-se o equipamento HORIBA U10.

A temperatura na incubadora variou de 24 a 26°C. A água utilizada na incubação continha de 6,4 a 6,7 mg/L de oxigênio dissolvido, pH de 6,7 a 7,3, e condutividade elétrica de 56 a 61  $\mu$ S/cm.

Na segunda etapa, a temperatura da água no tanque de reprodução variou de 26 a 29°C.

#### 3.2 Taxa de fêmeas desovadas

Das 18 fêmeas do T1 submetidas à indução hormonal, 17 responderam positivamente, correspondendo a uma taxa de fêmeas desovadas de 94,4%. Por outro lado, das 24 fêmeas do T2 submetidas a indução, 20 responderam, correspondendo a uma taxa de 83,3% (Tabela 1).

Tabela 1. Total de fêmeas induzidas (TFI), total de fêmeas desovadas (TFD) e taxa de fêmeas desovadas (DESOV) de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) submetidas aos tratamentos T1 e T2.

Tratamento	TFI	TFD	DESOV (%) <sup>*</sup>
T1 (dose única)	18	17	94,4 <sup>a</sup>
T2 (duas doses)	24	20	83,3 <sup>a</sup>

\*- letras iguais indicam tratamentos estatisticamente iguais (P > 0,05).

### 3.3 Horas-grau

As horas-grau obtidas no T1 variaram de 290 a 316 H° (n= 17), com média e desvio padrão de  $304 \pm 9$  H°, respectivamente. Quanto ao T2 as horas-grau variaram de 215 a 268 H° (n=20), com média e desvio padrão de  $231 \pm 14$  H°, respectivamente. A relação entre o T1 e o T2 foi de 1,3 (Figuras 3 e 4)

O tratamento T1 propiciou hora-grau estatisticamente superior ( $P < 0,05$ ) à hora-grau apresentada pelas espécies tratadas com o T2, tanto em função do comprimento total como do peso total (Figuras 2 e 3). O modelo final das relações entre hora-grau e demais variáveis foi representado pela seguinte fórmula, com  $R^2 = 0,9999$ :

$$HG = e^{5,72T1 + 5,44T2}$$

Onde: HG- hora-grau média; T1- tratamento 1; e T2- tratamento 2.

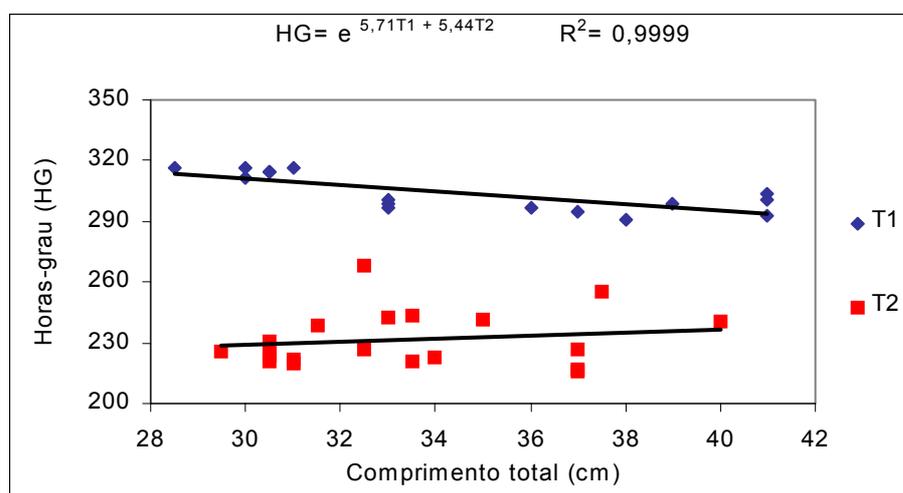


Figura 3. Horas-grau da curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) obtidas nos tratamentos T1 e T2 em função do comprimento total.

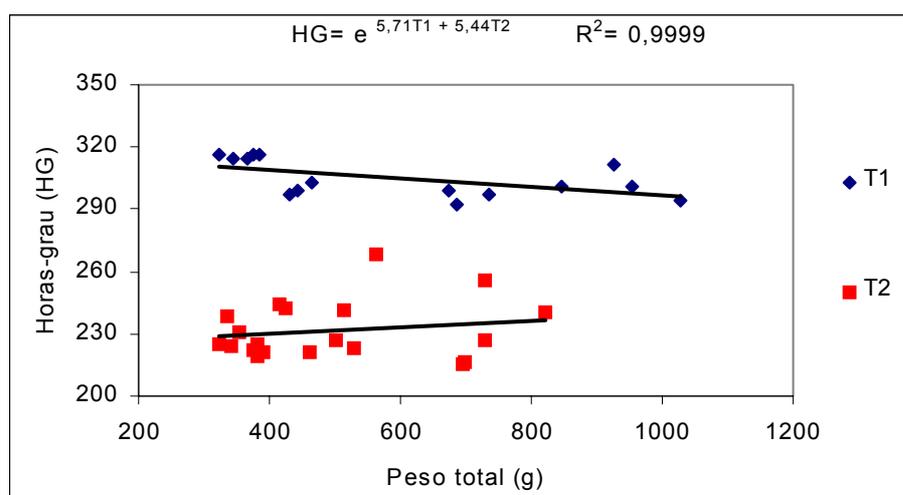


Figura 4. Horas-grau da curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) obtidas nos tratamentos T1 e T2 em função do peso total.

O transformador “ $\lambda$ ” que maximizou o coeficiente determinístico foi o logaritmo.

O tempo de latência necessário a extrusão dos óvulos foi em média 11h41min  $\pm$  21min no T1 (11h10min às 12h10min), a uma temperatura média de 26°C, enquanto no T2 o tempo médio foi de 8h58min  $\pm$  33min (8h17min às 10h35min), a mesma temperatura (Tabela 2).

Tabela 2. Tempo de latência mínimo, máximo, média e desvio padrão obtidos à extrusão das fêmeas de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) submetidas aos tratamentos T1 e T2.

Tratamento	Tempo de latência		
	mínimo	máximo	médio $\pm$ desvio padrão
T1 (dose única)	11h10min	12h10min	11h41min $\pm$ 21min
T2 (duas doses)	8h17min	10h35min	8h58min $\pm$ 33min

### 3.4 Taxa de fertilização

A taxa de fertilização média encontrada no tratamento T1 foi de 75,6  $\pm$  12,9 % e variou de 55,7 a 97,2 % (n= 17). Por outro lado, a taxa de fertilização média encontrada no T2 foi de 70,6  $\pm$  13,4 % e variou de 41,2 a 90,2 % (n= 20) (Tabela 3).

O modelo linearizado mais satisfatório para representar a taxa de fertilização em relação às demais variáveis, com  $R^2= 0,9896$ , foi:

$$\text{FERT} = (0,0343 \text{ CT} - 0,0006 \text{ PT})^2$$

Onde: FERT- taxa de fertilização média; CT- comprimento total médio; PT- peso total médio.

O transformador “ $\lambda$ ” maximizou o coeficiente determinístico quando se utilizou o valor de 0,5.

Tabela 3. Taxas de fertilização mínima, máxima, média e desvio padrão obtidas das fêmeas de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) submetidas aos tratamentos T1 e T2.

Tratamento	Taxa de fertilização (%)		
	mínima	máxima	média $\pm$ desvio padrão*
T1 (dose única)	55,7	97,9	75,6 $\pm$ 12,9 <sup>a</sup>
T2 (duas doses)	41,2	90,1	70,6 $\pm$ 13,4 <sup>a</sup>

\*- letras iguais indicam tratamentos estatisticamente iguais ( $P > 0,05$ ).

### 3.5 Taxa de larvas deformadas

A taxa média de larvas deformadas encontrada no tratamento T1 foi de  $1,36 \pm 1,28\%$  e variou de 0,0 a 4,19% ( $n= 16$ ). Por outro lado, a taxa média de larvas deformadas encontrada no T2 foi de  $0,96 \pm 1,26\%$  e variou de 0,0 a 4,39% ( $n= 20$ )(Tabela 4).

Os resultados não apresentaram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre os dois tratamentos. O modelo mais adequado para representar a taxa de larvas deformadas em relação às demais variáveis foi ( $R^2= 0,9979$ ):

$$\text{DEFOR} = e^{-0,0278 \text{ CT} + 0,0006 \text{ PT}}$$

Onde: DEFOR- taxa de larvas deformadas média; CT- comprimento total médio; e PT- peso total médio.

O transformador “ $\lambda$ ” que maximizou o coeficiente determinístico foi o logaritmo.

Tabela 4. Taxa de larvas deformadas mínima, máxima, média e desvio padrão obtidas das fêmeas de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) submetidas aos tratamentos T1 e T2.

Tratamento	Taxa de larvas deformadas (%)		
	mínima	máxima	média $\pm$ desvio padrão*
T1 (dose única)	0,0	4,19	1,36 $\pm$ 1,28 <sup>a</sup>
T2 (duas doses)	0,0	4,39	0,96 $\pm$ 1,26 <sup>a</sup>

\*- letras iguais indicam tratamentos estatisticamente iguais ( $P > 0,05$ ).

A deformidade encontrada com maior frequência nas larvas coletadas foi observada na coluna, que apresentou desvios (Figura 5). Foram verificadas também injúrias físicas nas larvas provocadas pela manipulação, as quais não estão relacionadas com os tratamentos e foram desconsideradas. Dentre essas injúrias físicas, as mais comuns foram larvas sem cabeça ou destruídas.



Figura 5. Desvios observados na coluna vertebral de larvas de Curimatã-pacu *Prochilodus Argenteus* nos tratamentos T1 e T2.

### 3.6 Consumo de tempo, de água e energia

O tempo necessário para concluir o processo de indução da curimatã-pacu no T1 foi em torno de 12 horas (11h10min às 12h10min) enquanto no T2 foi em torno de 24 horas (23h17min às 25h35min). O consumo de água foi em média 576 litros no T1, e 1104 litros no T2. A relação entre o consumo de

água no T1 e no T2 foi de 1,9. Já o consumo de energia no T1 foi de 432 kW, em média, e de 828 kW no T2, considerando que o aquecedor consumiu 36 kWh.

### 3.7 Concentração de glicose e de cortisol

A concentração de glicose no TS1 variou de 75,0 a 199,2 mg/dL (n= 6), sendo a mínima encontrada no P6 por ocasião da extrusão e a máxima no momento do estresse induzido no P3 (Figura 6). No TS2, a concentração de glicose variou de 62,1 a 210 mg/dL (n= 6), sendo a mínima apresentada pelo P6 no momento da extrusão e a máxima no P3 por ocasião da segunda dose (Figura 7).

A concentração de cortisol no TS1 variou de 4,39 a 69,56  $\mu\text{g/dL}$ , sendo a mínima encontrada no P4 por ocasião do estresse induzido e a máxima também no momento do estresse induzido no P2 (Figura 8). No TS2, a concentração de cortisol variou de 3,27 a 133,74  $\mu\text{g/dL}$ , sendo a mínima apresentada pelo P4 no momento da extrusão e a máxima no P6 por ocasião da segunda dose (Figura 9).

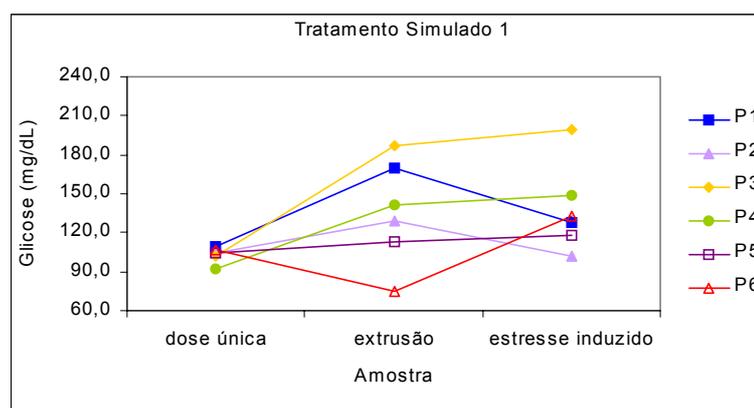


Figura 6. Perfil da concentração de glicose dos indivíduos de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) submetidos ao tratamento simulado de dose única (TS1).

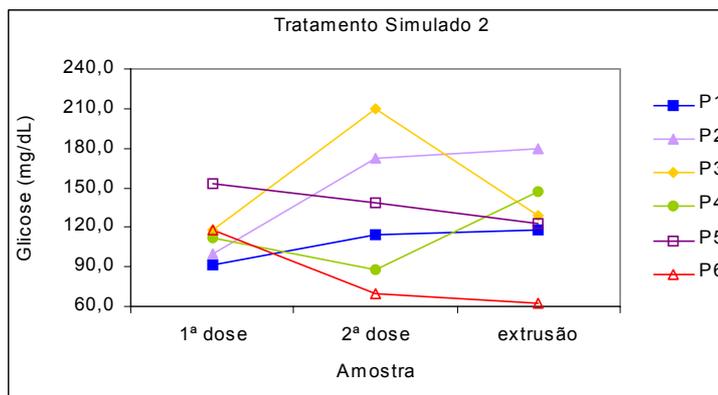


Figura 7. Perfil da concentração de glicose dos indivíduos de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) submetidos ao tratamento simulado de duas doses (TS2).

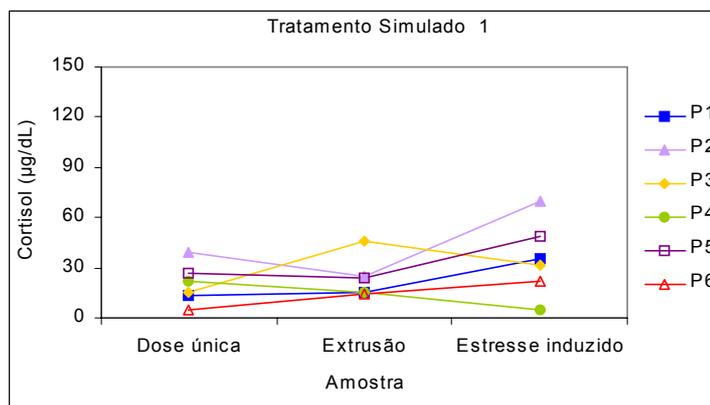


Figura 8. Perfil da concentração de cortisol dos indivíduos de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) submetidos ao tratamento simulado de dose única (TS1).

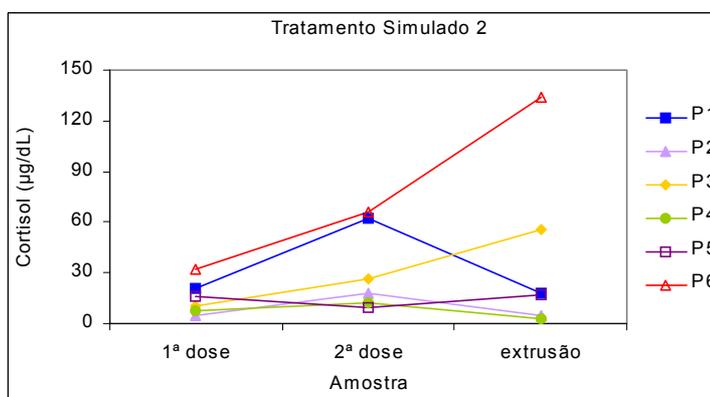


Figura 9. Perfil da concentração de cortisol dos indivíduos de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829) submetidos ao tratamento simulado de duas doses (TS2).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização do ambiente

As características físicas e químicas tomadas (temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica) dos ambientes (tanques de reprodução e incubadoras) possivelmente não influenciaram expressivamente nos resultados, pois são semelhantes às encontradas na hipofisação de espécies que vivem na mesma região como com: curimatã-pacu (mesma espécie), matrinhã, piauí-verdadeiro e dourado, as quais seguem as seguintes características: 23 – 26 °C de temperatura, 5,1 – 6,8 mg/L de oxigênio dissolvido, 6,0 – 7,2 de pH, e 47 – 105 µS/cm de condutividade elétrica (Sato *et al.*, 1996a, 1997a e c, e 2000).

### 4.2 Taxa de fêmeas desovadas

A taxa de fêmeas desovadas em ambos os tratamentos foi considerada satisfatória. O tratamento com dose única (T1) apresentou 94,4% de fêmeas que ovularam e desovaram satisfatoriamente produzindo ovos viáveis, enquanto 83,3% das fêmeas submetidas ao tratamento com duas doses (T2) responderam. Estatisticamente, não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre elas, indicando que ambos podem ser utilizados de maneira eficaz, muito embora o T1 tenha demonstrado uma taxa de desova mais atraente.

Sato (1999) encontrou uma taxa de 75% de fêmeas de curimatã-pacu *Prochilodus marggravii* (= *P. argenteus*) que responderam positivamente a indução através de hipofisação entre 1995 e 1998. O autor também empregou tratamentos semelhantes aos descritos neste trabalho, inclusive doses, porém não apresentou as taxas de fêmeas desovadas de cada tratamento isoladamente. Utilizando a mesma espécie acima mencionada, Sato *et al.* (1996a) avaliaram os dados oriundos de 190 fêmeas submetidas ao tratamen-

to com duas doses entre os anos de 1983 e 1993 e apresentaram uma taxa de fêmeas desovadas média de 77,9%.

A eficiência do método da hipofisação também foi verificada em inúmeros outros trabalhos de indução artificial com resultados semelhantes aos alcançados neste trabalho como em Silva *et al.* (1981), com tambaqui (*Colossoma macropomum*); Eckmann (1984a), com *Brycon cf. erythropterus*; Eckmann (1984b), com *Prochilodus cf. nigricans* e *Brycon cf. erythropterus*; Godinho e Godinho (1986), com pacu-caranha (*Colossoma mitrei*); Bernardino *et al.* (1993), com matrinchã (*Brycon cephalus*); Kouril *et al.* (1996), com *Misgurnus fossilis*; e Brzuska (2000), *Cyprinus carpio*.

O uso de uma única dose (tratamento simples) tem sido indicado como meio de reduzir a manipulação imposta em fêmeas induzidas seja com hipofisação ou com hormônios de mamíferos ou sintéticos, a fim de evitar danos ao estágio maturacional e a ovulação das suas gônadas, inclusive a morte dos reprodutores. Yaron (1995), apoiado por Peter e Yu (1997) e Zohar e Mylonas (2001), considera que o uso do tratamento simples reduz a manipulação e aplicação de hormônio, e conseqüentemente é menos trabalhoso e estressante aos peixes. Produtores de truta (*Oncorhynchus mykiss*) evitam manipulações adicionais em espécimes submetidos à desova para não comprometer o seu estado físico (Bromage *et al.*, 1992).

Na espécie *Prochilodus platensis*, Fortuny *et al.* (1988) compararam diversos tratamentos usando-se extrato homoplástico de hipófise e HCG. Foram aplicadas doses únicas do extrato de 0,5 e 1,0 hipófise por quilo de peixe vivo; doses do extrato de 0,5 hipófise + 250 UI de HCG/kg de peixe vivo e de 1,0 hipófise + 500 UI HCG/kg; e, finalmente, dose única de 1000 UI HCG/kg e duas doses de 500 UI HCG/kg, com 12 horas de intervalo. As melhores desovas foram encontradas nos tratamentos com doses únicas do extrato homoplástico de hipófise, de 60 a 98%, sendo as médias de 92% na dose do extrato de 1,0 hipófise/kg, e de 85% na de 0,5 hipófise/kg.

Contudo, o tratamento simples é pouco empregado na maioria dos trabalhos que envolvem hipofisação, provavelmente porque requer uma seleção cuidadosa de fêmeas aptas a indução hormonal, pois a dose única só

terá resultados satisfatórios se o peixe estiver maduro (Woynarovich e Horváth, 1989). No entanto, é comum encontrar trabalhos que descrevem protocolos de indução hormonal com sucesso usando-se doses únicas de hormônio coriônico humano (HCG), ou hormônios de mamíferos ou sintéticos (GnRH, GnRHa, LHRH e LHRHa). Dessa forma, Lee e Yang (2002) induziram a maturação do ovócito e a ovulação em *Lateolabrax maculatus* com doses únicas de 1000 e 2000 UI de HCG por quilo de peixe vivo (UI HCG/kg). Foram encontrados picos significativos ( $P < 0,01$ ) na concentração de GTH em trutas arco-íris jovens 10 minutos após a aplicação de dose única de 20 $\mu$ g de LHRHa por quilo de peixes (Crim *et al.*, 1988), o que é preconizado para obter a ovulação de fêmeas maduras.

O conteúdo de GTH II (=LH) existente no extrato hipofisário (Zohar, 1989), que, por sua vez, depende do período do ano em que foi efetuada a coleta da glândula pituitária, do tempo entre sua coleta e sua preservação, e do peso, sexo e idade do peixe doador (Yaron, 1995), certamente é um fator importante a ser considerado, pois, este hormônio é o principal responsável pela maturação final dos ovócitos, ovulação e desova, bem como pela espermição de peixes (Mylonas *et al.*, 1997; Mateos *et al.*, 2002). Portanto, o emprego de extrato hipofisário de glândulas que contenham baixa concentração de GTH II, poderá comprometer o sucesso da indução hormonal. Este problema pode ser minimizado pela aquisição de hipófises de procedência conhecida e de eficácia constatada.

Outro ponto a ser considerado é o estado nutricional e as condições de estocagem a que os reprodutores estão submetidos (Bromage *et al.*, 1992). A presença de lipídios e ácidos graxos na composição da dieta de um reprodutor pode determinar o sucesso da reprodução e sobrevivência da progênie, uma vez que, desenvolvimento gonadal, fecundidade e qualidade do ovo são afetados por certos nutrientes essenciais da dieta (Izquierdo *et al.*, 2001). Boas condições de estocagem em cativeiro, como baixa densidade populacional, temperatura e alguns parâmetros químicos da água, podem aliviar o estresse dos peixes quando confinados (Woynarovich e Horváth, 1989).

A seleção de fêmeas aptas à indução hormonal também merece atenção especial na avaliação das respostas obtidas em peixes submetidos à indução hormonal. Os métodos de seleção de peixes teleósteos se baseiam, em geral, em características morfológicas externas da fêmea, a saber: papila urogenital dilatada e avermelhada (vascularizada) e barriga volumosa e flácida. (Yaron, 1995; Sato *et al.*, 1996a; Sato, 1999). Fenerich-Verani *et al.* (1984) *apud* Narahara *et al.* (2002), utilizaram como indicador de desenvolvimento gonadal em *Prochilodus scrofa*, a distribuição modal da frequência porcentual dos diâmetros dos ovócitos intraovários. A posição da vesícula germinativa do ovócito é também uma forma de avaliar se a fêmea está suficientemente madura para receber a indução artificial (Narahara *et al.*, 2002). Yaron (1995) encontrou que fêmeas de carpas que apresentavam mais de 66% dos ovócitos com núcleo migrando para o pólo animal, foram induzidas a ovulação com sucesso. A circunferência do corpo (Yaron, 1995) e o fator de condição relativo também podem ser utilizados na seleção de peixes para reprodução (Verani *et al.*, 1997).

A temperatura da água pode interferir na ovulação das fêmeas submetidas à indução hormonal e comprometer o sucesso do processo, pois cada espécie possui uma temperatura ótima para indução. Sato *et al.* (1996a), demonstrou que fêmeas de *Prochilodus marggravii* (= *Prochilodus argenteus*) submetidas à indução e mantidas em diferentes temperaturas (< 23, 23, 24 e 25°C) apresentaram taxas de fêmeas desovadas distintas (zero, 70, 74 e 92%, respectivamente). A ovulação do salmonídeo *Salmo salar* induzido com o hormônio sintético análogo (LHRHa) foi atrasada ou inibida a temperatura de 16°C, enquanto a 6 e 11°C a ovulação ocorreu normalmente ou foi retardada, respectivamente (King e Pankhurst, 2004).

A idade e o peso, o qual está estreitamente relacionado com a idade, dos reprodutores também pode influir nas respostas aos tratamentos aplicados (Bromage *et al.*, 1992; Sato *et al.*, 1996a; Brzusca, 2001).

#### 4.3 Hora-grau

A hora-grau média e o tempo de latência médio obtido nos tratamentos aplicados foram, respectivamente, 304 H° e 11h41min no T1 e, 231 H° e 8h51min no T2. A relação encontrada entre os tratamentos (T1/T2) foi de 1,3, ou seja, à hora-grau para um espécime de curimatã-pacu tratado com uma dose simples é 1,3 vez maior do que a hora-grau do espécime tratado com duas doses. Este aspecto está associado ao desenvolvimento gonadal das fêmeas selecionadas (Makino *et al.*, 1999), considerando que a primeira dose aplicada pelo método com duas doses tem a função de incrementar a maturação final dos ovócitos que terminaram a vitelogênese e sincronizar o estágio maturacional deles para aplicar a dose decisiva (Harvey e Hoar, 1979). Estes autores consideram que quando uma única dose é administrada as horas-grau tende a ser maior, pois envolverá todo processo de maturação final e ovulação.

Os resultados obtidos neste trabalho são semelhantes aos resultados apresentados por Sato (1999) para *Prochilodus marggravii* (= *Prochilodus argenteus*), onde a hora-grau média obtida com o uso de uma dose de EBHC foi 334 H°, enquanto que com duas doses a hora-grau média foi de 224 H°, a uma temperatura de 25-26°C. A hora-grau média obtida para aquela espécie, a uma temperatura média de 24,1°C, foi 227 H° (Sato *et al.* 1996a). Os autores aplicaram duas doses e encontraram uma faixa de hora-grau que variou de 210 a 250 H° (23 a 25°C).

É comum verificar nos trabalhos de desova induzida, autores utilizarem tempo de latência (período entre a última dose recebida e a ovulação) ao invés da hora-grau para avaliar a hora da ovulação de fêmeas induzidas (Yaron, 1995; Kouril *et al.*, 1996). Contudo, hora-grau é o produto entre o tempo de latência (em horas) e a temperatura média da água na qual o reprodutor está estocado (Donaldson e Hunter, 1983).

O uso da hora-grau ou do tempo de latência em trabalhos de reprodução artificial tem função primordial, uma vez que permite estimar com certa precisão o período que ocorrerá a ovulação da espécie induzida (Fortuny *et al.*, 1988; Lee e Yang, 2002). Dessa forma, pode ser evitada a manipulação precoce do peixe para a extrusão, que pode prejudicar a evolu-

ção dos ovócitos, resultando na ovulação parcial ou regressão dos óvulos (Baldisserotto, 2002; Zohar e Mylonas, 2001). Por outro lado, também se deve evitar passar muito tempo para efetuar a extrusão, pois os ovócitos podem se tornar sobremaduros e afetar sua taxa de fertilização (Yaron, 1995). Ambos os casos podem prejudicar o processo de indução. Além disso, em casos extremos, cujo desenvolvimento final da maturação gonadal tenha sido prejudicado, o peixe pode não ovular, e até morrer, caso os óvulos que avançaram sua maturação não possam ser expelidos e serem reabsorvidos no interior das gônadas (Woynarovich e Horváth, 1989) ou ainda se os ovócitos passarem da hora da extrusão a qualidade dos produtos sexuais caem progressivamente afetando a fertilização (Fortuny *et al.*, 1988).

Fortuny *et al.* (1988) considera importante o tempo de latência para o sucesso da fertilização artificial de *P. platensis*, devido ao curto período de viabilidade dos óvulos nesta espécie (< 2 horas após a ovulação). Em matrinchã, induzido com duas doses (0,4 e 4,0 mg/kg, intervalo de 11 h) de hipófises de curimatã, Bernardino *et al.* (1993) verificaram ovulação em 212 horas-grau após 8h30min da última aplicação. Kouril *et al.* (1996) encontrou um tempo de latência entre 16 e 17 horas para *Misgurnus fossilis* aplicados com duas doses de EBHC de 0,5 e 4,5mg/kg com intervalo de 17 horas e 30 minutos.

Os principais fatores que podem afetar à hora-grau dos peixes submetidos à indução são: a espécie selecionada e sua origem (Brzusca, 2000 e 2002), o protocolo de indução (Sato, 1999; Kouril, 1987), a temperatura da água na qual o peixe está estocado e seu estágio gonadal (sobretudo no emprego de uma dose) (Makino *et al.*, 1999; Sato *et al.*, 1996a), e o estresse ocasionado por manipulações excessivas (Baldisserotto, 2002; Sato, 1999).

Sato *et al.* (1997), trabalhando com a espécie da ordem Characiformes *Salminus brasilienses* encontraram hora-grau de 142 H<sup>o</sup>, enquanto que com a espécie da ordem Siluriformes *Rhinelepis aspera* foi verificada uma hora-grau de 212 H<sup>o</sup> (Sato *et al.*, 1998). Em ambos os trabalhos foram empregados o método com duas doses. As horas-grau de outras espécies sul-americanas

também foram tomadas como: tambaqui (Chellapa *et al.*, 1996), Curimatá-pioa (Sato *et al.*, 1996b), piau-branco (Sato *et al.*, 1996c), e mandi-amarelo (Sato *et al.*, 1999) e outras 17 espécies (Sato, 1999).

Brzusca (2001) comparou o uso de duas doses de EBHC com o uso de duas doses de GnRH análogo de mamífero + metaclopramide e encontrou períodos de latência de 11 e 13 horas, respectivamente. A procedência da espécie e o método de indução empregado parecem influenciar a desova em carpas, na medida que Brzusca (2000), verificou que carpas de duas linhagens submetidas à indução com EBHC (0,3 e 2,7 mg/kg, intervalo de 12 h) ovularam ao mesmo tempo (12 horas), ao passo que aquelas induzidas com dose única de GnRH análogo de mamífero + metaclopramide ovularam em períodos diferentes (16 e 19 horas). Resultados semelhantes foram encontrados para três linhagens de *Cyprinus carpio*, utilizando-se protocolos análogos aos descritos anteriormente, por Brzusca e Bialowas (2002). Isso pode caracterizar o efeito da aplicação da primeira dose na sincronização da maturação do ovócito antes da dose decisiva (Peter e YU, 1997), bem como da procedência da espécie.

Espécimes de *Lateolabrax japonicus* submetidos à indução com doses únicas de HCG (500 UI/kg) e extrato de pituitária de salmão (20 mg/kg) apresentaram tempos de latência diferentes quanto ao estágio de desenvolvimento gonadal determinado segundo o diâmetro dos seus ovócitos (Makino *et al.*, 1999). Para os ovócitos medindo de 560 a 700  $\mu\text{m}$ , o tempo de latência foi de 3 a 4 dias, de 690 a 800  $\mu\text{m}$  foi de 2-3 dias, de 800 a 880  $\mu\text{m}$  foi de 2 dias, e, finalmente, de 1100 a 1190  $\mu\text{m}$  o tempo para atingir a ovulação foi 1 dia.

Existe uma relação inversa entre a hora-grau e temperatura evidenciada em espécies de peixe tropicais (Fortuny 1988). Sato *et al.* (1996b) relatou que o período para atingir a ovulação do piau-branco hipofisado com duas doses foi menor a uma temperatura de 25°C do a 23°C. A velocidade das reações metabólicas é alterada por variações na temperatura, resultando na aceleração ou retardamento dos processos fisiológicos, haja vista que cada espécie responde melhor a uma determinada

temperatura (Baldisserotto, 2002; Santos, 2003). A espécie *L. maculatus*, adaptada a clima temperado apresentou melhores índices de desenvolvimento gonadal com a diminuição da temperatura (26,3 a 15,3°C) e fotoperíodo, embora foi verificada regressão ovariana quando a temperatura caiu de 15,3 a 13,0°C (Lee e Yang, 2002). Regressão ovariana foi observada em espécimes de *Brycon opalinus* que não se reproduziram mediante indução hormonal com duas doses de extrato de hipófise de salmão (Narahara et al, 2002).

Um fator que pode inibir a ovulação dos ovócitos é o estresse (Baldisserotto, 2002; Woynarovich e Horváth, 1989). Svoboda *et al.* (2001) observaram altas concentrações de glicose em espécies de *Tinca tinca* que não desovaram, situação que pode refletir uma resposta ao estresse causado pela indução.

#### 4.4 Taxa de fertilização

A taxa de fertilização média observada no T1 foi de 75,6 % (55,7 – 97,2 %), enquanto a observada no T2 foi de 70,6 % (41,2 – 90,2 %). Não houve diferença significativa entre elas ( $P > 0,05$ ).

Estes resultados estão consoantes aos resultados obtidos para *Prochilodus marggravii* (= *Prochilodus argenteus*) por Sato (1999), que verificou uma taxa de fertilização média de 73,03 % para os tratamentos com uma ou duas doses, e por Sato *et al.* (1996a) que observou uma taxa de fertilização média de 70 % com o emprego de duas doses no período de 1983 e 1993 e, embora tenha mostrado uma elevada variação nos resultados (16,0 – 99,6 %), eles afirmam que a taxa da maioria das fêmeas foi de 70%.

Brzusca e Bialowas (2002) verificaram o efeito significativo ( $P < 0,01$ ) do período de latência na taxa de fertilização de *Cyprinus carpio*. Foram administrados dois protocolos em diferentes linhagens da espécie. Eles observaram dois períodos de latência para peixes da linhagem F (francesa) induzidos com Ovopel (1/5 e 1 pélete/kg intervalo de 12 h) e demonstraram que aqueles que desovaram com 6 horas após a segunda dose apresentaram

maior peso de ovócitos (504,82 g) do que os peixes que desovaram com 10 horas (332,97 g) e as taxas de fertilização apresentadas foram, respectivamente, 98,20 e 93,52 %. Não foi apresentada uma causa para isto, porém, os autores atribuíram o fato ao grau de maturidade dos ovócitos. Por outro lado, nos espécimes tratados com hipófise de carpa (0,3 e 2,7 mg/kg), todos os peixes desovaram com 12 horas, o peso médio dos ovócitos foi de 330,02 g, e a taxa de fertilização média obtida foi 93,11 %. Afirmam ainda que o peso dos ovócitos obtidos na extrusão de fêmeas induzidas é um importante aspecto a ser considerado na avaliação da qualidade dos ovos obtidos, sendo o maior de melhor qualidade.

A qualidade dos ovos obtidos foi melhor para *Cyprinus carpio* (linhagens húngaras e polonesas) induzidas por hipofisação (0,3 e 2,7 mg/kg, intervalo de 12 h) do que aquelas induzidas com dose única de GnRH + metaclopramide (20 µg/kg + 10 mg/kg) (Brzusca, 2000). Isso foi verificado através das taxas de fertilização apresentadas, sendo 75,04% para o primeiro protocolo e 48,81% para o segundo ( $P < 0,05$ ). O autor verificou diferenças altamente significativas ( $P < 0,0001$ ) entre as taxas da linhagem húngara (83,83 %) e da linhagem polonesa (40,02 %), resultando melhor qualidade do ovo para primeira linhagem.

Fortuny *et al.* (1988) considerou alta uma taxa de fertilização de 85% (60 e 90%) obtidas pela indução de *Prochilodus platensis* com o extrato de 0,5 hipófise de homólogo por quilo de peixe vivo (EPH/kg) e 92% (85 e 98%) com 1,0 de EPH/kg. Os bons resultados encontrados são atribuídos à modificação na manipulação dos peixes e, sobretudo na seleção mais criteriosa dos espécimes aptos à indução utilizando, no caso, fêmeas das quais os ovócitos estavam em adiantado estágio maturacional e de tamanho bastante homogêneo. Bernardino *et al.* (1993) encontrou para matrinhã induzido com hipófises de curimbatá, 0,4 e 4,0 mg/kg, intervalo de 11 h, 85 % de taxa de fertilização. Eckmann (1984a) encontrou taxa de fertilização de 60 a 80% com *Brycon cf. erythropterus* após múltiplas doses de hipófises de *Abramis brama*.

Narahara *et al.* (2002) encontrou uma taxa de fertilização de 90% apli-

cando duas doses de extrato purificado de salmão de 5 e 10 mg/kg com 12 horas de intervalo em *Brycon opalinus*. Lee e Yang (2002), encontraram uma taxa de fertilização de 75,7% e 70,1%, administrando-se doses únicas de 1000 e 2000 UI de HCG/kg de *L. maculatus*. Obi e Ewemade (1999) avaliaram o efeito de hipófises homoplásticas oriundas de machos, fêmeas, e machos e fêmeas, em bagre-africano e obteve taxas de fertilização de 69,0, 77,5 e 86,0%, respectivamente, com significativa diferença entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ). Os autores consideraram os resultados do tratamento combinado de hipófises de machos e de fêmeas consistentemente superiores e atribuíram isso ao sinergismo entre os conteúdos das hipófises.

King e Pankhurst (2004) observaram uma redução na fertilidade do salmão submetido à indução (LHRHa injetado ou implantado), com diferentes temperaturas (ambos com 6, 11 e 16°C) e verificaram que a uma determinada temperatura a produção de ovos férteis é significativamente maior, sugerindo a existência de uma temperatura ótima que incrementa a taxa de fertilização. A taxa de fertilização da espécie *Morone saxatilis* variou de 38 a 49% com a administração de GnRHa, duas injeções de 20 µg/kg, implante de pélete de 40 µg/kg e implante de microesferas de (40 µg/kg) a uma temperatura de 22-23 °C (Mylonas *et al.*, 1998).

Em outras espécies sul-americanas foram encontrados dados semelhantes como em tambaqui, Chellapa *et al.* (1996), com taxa de fertilização de 50-70 %, e piauí-branco, com taxa de fertilização média de 69% (Sato *et al.*, 1996c). Zaniboni Filho e Barbosa (1996) apresentam as taxas de fertilização das seguintes espécies tratadas com EBHC (0,25mg/kg, 1-3 dias antes do tratamento tradicional de 0,5 e 5 mg/kg): curimatá (53,3%), dourado (26,2%), jaú (7,2%), matrinchã (12,8%), pacu-caranha (82,8%), piauí-verdadeiro (51,2%), piapara (48,1%) e tambaqui (84,7%).

A taxa de fertilização média encontrada para Curimatá-pioa foi 71% (Sato *et al.*, 1996b), para mandi-amarelo foi 64,8% (Sato *et al.*, 1999), para cascudo-preto foi de 72% (Sato *et al.*, 1998), e para dourado foi de 51,6%. Sato (1999) apresenta as taxas de fertilização verificadas em 23 espécies nativas da bacia do Rio São Francisco.

#### 4.5 Taxa de larvas deformadas

A taxa de larvas deformadas média encontrada no T1 foi de 1,36 (0,0 a 4,19 %) enquanto no T2 foi de 0,96 (0,0 a 4,39 %). O elevado desvio padrão observado para esses dados demonstra a grande variabilidade encontrada com relação à taxa de larvas deformadas.

Trabalhos de indução hormonal que consideram esse aspecto para avaliar a qualidade dos ovos produzidos não são comuns, pois a maioria expressiva dos autores prefere considerar a taxa de larvas eclodidas. Nesse sentido, os dados apresentados são iniciais na avaliação de métodos de indução hormonal.

Em um dos poucos trabalhos que consideraram deformações nas larvas como meio de avaliar a qualidade dos ovos obtidos de diferentes protocolos, Brzusca (2001) relatou que não foram encontradas larvas deformadas oriundas de ovos de fêmeas de *Silurus glandis* de menor tamanho. Entretanto o autor não discutiu as diferenças observadas entre os métodos (hipofisação/GnRH + metaclopramide), bem como os dados obtidos inerentes à taxa de larvas deformadas. Noutro, Fortuny *et al.* (1988) também verificaram a taxa de larvas deformadas em *Prochilodus platensis* e, embora não disponibilizem os dados precisos (a exemplo do autor anterior), afirmaram que a qualidade dos ovócitos intraováricos caiu na primeira hora e acelerou duas horas e meia após a ovulação com evidente crescimento da proporção de larvas deformadas simultaneamente.

Vários autores recorrem a taxa de larvas eclodidas, que não foi objeto de avaliação no presente trabalho, para verificar a qualidade dos ovos obtidos. Eckmann (1984a) obteve uma taxa de eclosão bastante variada (10 a 70 %) na hipofisação de *Prochilodus cf nigricans*. Em fêmeas hipofisadas de pacu-caranha foi encontrada uma taxa de eclosão média de 86,3 % (77 – 92 %) (Godinho e Godinho, 1986). Narahara *et al.* (2002) verificou uma taxa de eclosão de 40 % em espécimes de *Brycon opalinus*.

Em bagre-africano tratado com extratos hipofisários homoplásticos de macho, fêmea e macho e fêmea, Obi e Ewemade (1999) obtiveram taxas de

eclosão de 51,5, 59,0 e 72,0 %, respectivamente. Araújo *et al.* (1998) verificou a influência da salinidade da água na taxa média de eclosão e obteve 37,0, 47,3 e 48,4 % para salinidades de 15, 25 e 35 ppt, respectivamente. Esses autores afirmaram não ter observado larvas deformadas e, embora a taxa de eclosão a 35 ppt tenha sido maior, não foi encontrada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos.

#### 4.6 Consumo água, energia e de tempo

O tempo médio gasto para realizar o processo de indução foi de 12 horas (11h10min às 12h10min) no T1, enquanto no T2 foi de 24 horas (23h17min às 25h35min). O consumo de água foi em média 576 L no T1, e 1104 L no T2. A relação entre o consumo de água no T1 e no T2 foi de 1,9. Já o consumo de energia no T1 foi de 432 kW, em média, e de 828 kW no T2.

Na literatura não são encontrados dados referentes aos consumos de tempo, água e energia ao longo do processo de indução hormonal, seja através de hipofiseção ou de hormônios sintéticos. Portanto será feita uma comparação dos dados obtidos com os protocolos empregados nesse trabalho com alguns dos vários protocolos existentes.

Nos trabalhos de hipofiseção com espécies tropicais nos quais se usam duas doses, o tempo consumido para concretizar a indução, variou de 20 a 30 horas, considerando 12 - 18 horas de intervalo e 8 - 12 horas de tempo de latência, numa temperatura de 24 – 28 °C (Sato *et al.*, 1996a, b e c, 1997a e b, 1998 e 1999; Sato, 1999; Narahara *et al.*, 2002; Bernardino *et al.*, 1993; Godinho e Godinho, 1986). Portanto, considerando os dados obtidos nesse trabalho, os consumos de energia e água gastos nos trabalhos acima citados foram de 720 a 1080 kW, e, 960 a 1440 L, respectivamente.

Nos trabalhos realizados por Zaniboni Filho e Barbosa (1996), Eckmann (1984a e b) e Silva (1981) cujo tempo gasto variou de 30 a 92 horas, os consumos de energia e água se elevaram expressivamente variando de 1080 a 3312 kW, e, 1440 a 4416 L, respectivamente. Por outro lado, ao se comparar os consumos obtidos aplicando duas doses ou mais e

uma dose, verificou-se uma economia de 288 a 648 kW, e, 384 a 3840 L, para os trabalhos com duas doses, e de 648 a 2880 kW, e, 864 a 3840 L, para os trabalhos com mais de duas doses.

Dessa forma, esses aspectos devem ser considerados com ponderação, pois se trata da economia dos recursos naturais existentes, sobretudo a água, que é um insumo importantíssimo, limitado e de usos múltiplos, e assim, promover o desenvolvimento de uma aquicultura sustentável (Vinatea, 1999). Não obstante, deve-se considerar a economia nas contas de água e energia, e de tempo, esse último, resultando também na economia com pessoal.

#### 4.7 Taxas de glicose e de cortisol

A concentração de glicose no TS1 variou de 75,0 a 199,2 mg/dL, já no TS2, a concentração de glicose variou de 62,1 a 210 mg/dL. Por outro lado, concentração de cortisol no TS1 variou de 4,39 a 69,56 µg/dL, enquanto no TS2, a concentração de cortisol variou de 3,27 a 133,74 µg/dL.

Os resultados obtidos para as concentrações de glicose e cortisol têm caráter demonstrativo e não se observou um padrão diante dos tratamentos aplicados, embora não se tenha aplicado um tratamento estatístico. Nesse sentido, se objetivou apresentar os primeiros resultados das concentrações de glicose e cortisol, relacionadas com os tratamentos empregados, e verificar se as mesmas apresentavam tendência de aumentar ou diminuir o número de manipulações.

Concentrações de glicose e cortisol são considerados os mais importantes indicadores de estresse em peixes (Svobodová *et al.*, 1999). Esses autores verificaram os efeitos da manipulação, da anestesia, e do transporte no estresse de carpa-comum através das concentrações de cortisol e glicose. Para verificar os feitos da manipulação, foram retiradas amostras de sangue de peixes no momento em que foram capturados, e, 2 e 5 minutos após a captura. Eles não observaram correlação entre as concentrações de glicose e cortisol naqueles peixes amostrados na captura,

enquanto naqueles amostrados 2 e 5 minutos depois, verificou-se correlação negativa ( $r = -0,662$ ,  $P < 0,001$ ).

Nesses períodos, a concentração de cortisol caiu 40% e a de glicose subiu 45%, confirmando a relação inversa entre o cortisol e a glicose naquela espécie. Em peixes anestesiados não foram observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) na concentração de cortisol com relação grupo controle, ao passo que, as concentrações de glicose divergiram em ambos os grupos, pois a concentração encontrada nos peixes tratados com anestésico foi mais baixa.

Com relação ao transporte foram encontradas diferenças significativas entre os três testes utilizados e os resultados foram semelhantes àqueles achados para a manipulação por 2 e 5 minutos, ou seja, a concentração de cortisol diminuiu enquanto a de glicose aumentou com o tempo. A maioria dos peixes transportados com o trato digestivo cheio e capturados sem maiores cuidados morreu, e os que sobreviveram demonstraram sinais clínicos de estresse avançada e alta concentração de amônia no sangue, o que pode ter ocasionado auto-intoxicação naqueles que morreram, porém não foi constatado.

As concentrações de glicose e cortisol têm sido utilizadas como indicador de estresse em *Tinca tinca* no período de pré-ovulação e pós-ovulação (Svoboda *et al.*, 2001). A concentração de glicose foi significativamente alta ( $P < 0,01$ ) em fêmeas imediatamente após a reprodução do que em fêmeas não desovadas, situação associada ao estresse provocado pela manipulação e estado fisiológico do peixe quando submetido a reprodução artificial.

Por outro lado, na repetição dos trabalhos em época posterior, foi encontrada uma concentração de glicose significativamente alta ( $P < 0,01$ ) em fêmeas que não desovaram, dessa vez, essa situação foi associada ao estresse provocado pela não liberação dos ovócitos. Também foi notado um leve incremento na concentração de cortisol associado ao estresse, porém não significativo ( $P > 0,01$ ). Os autores comentam ainda que existe uma diferença significativa ( $P < 0,01$ ) na concentração de glicose entre os períodos

anterior (dois meses) e durante a desova do *Tinca tinca*. Zuim *et al.* (1988) revela que o desenvolvimento gonadal é um dos indutores da elevação na concentração de glicose.

Diante de uma situação estressante a glicose e o cortisol são utilizados pelo peixe para promover seu equilíbrio metabólico mediante dois tipos de respostas, uma primária e outra secundária (Wendelaar Bonga, 1997 *apud* Urbinati, 2003). A resposta primária, ou de alerta, envolve o sistema nervoso simpático e o eixo hipotálamo-hipófise, resultando na liberação de catecolaminas e cortisol. Estes hormônios desencadeiam uma resposta secundária, ou de resistência, ativando o metabolismo energético pela produção de glicose pelo fígado através das catecolaminas. O cortisol atua quebrando os lipídios e proteínas para garantir a continuidade desse processo.

Contudo, embora o cortisol tenha função mediadora diante do estresse, ele pode causar a supressão dos hormônios hipofisários e gonadais, interferindo no processo reprodutivo e, conseqüentemente, na qualidade dos gametas (Peter e Yu, 1997; Lee e Yang, 2002; Scherek *et al.*, 2001). Por outro lado, em bagre-de-canal não foram observados efeitos deletérios do aumento da concentração de cortisol sangüíneo em sua performance reprodutiva (Small, 2004). Ao contrário, peixes tratados com alimento comercial enriquecido com cortisol apresentaram maior freqüência de desova, porém não significativamente ( $P > 0,05$ ), do que os peixes alimentados com ração comercial sem cortisol (controle), e não interferiu ( $P > 0,05$ ) na qualidade dos ovos (peso da massa de ovos e fecundidade) e na taxa de eclosão das larvas. Estas conclusões corroboram com as de Pankhurst *et al.* (1995), os quais afirmam que o cortisol não interferiu negativamente na esteroidegenese ovariana em três espécies de peixe estudadas, e sugere que ou o cortisol não interfere na atividade reprodutiva ou não interfere na esteroidegenese ovariana dos peixes.

## 5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- O uso do tratamento T1 ou do T2, não influencia nas taxas de fêmeas desovadas, nas taxas de fertilização e nem nas taxas de larvas deformadas;
- O uso do tratamento T1 ou do T2, influencia na hora-grau, onde o T1 propicia hora-grau 1,3 vez maior do que o T2;
- O comprimento total e o peso total influenciam nas taxas de fêmeas desovadas, nas taxas de fertilização e nas taxas de larvas deformadas, seja com o emprego do tratamento T1 ou T2;
- O tratamento T2 eleva os consumos de tempo, de água e de energia;
- As concentrações de glicose e cortisol do plasma sanguíneo não apresentam padrão conforme os tratamentos aplicados, não podendo, portanto, caracterizar situação de estresse em curimatã-pacu nas condições aplicadas no presente trabalho;
- O tratamento T1 parece ter a mesma eficiência apresentada pelo tratamento T2, na indução à desova de curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* Agassiz (1829).

## 6. REFERÊNCIAS

AMARAL, H. J.; SANTOS, I. L.; PEREZ-REGADERA, J. J. Induced spawning of tench *Tinca tinca* (L.) 1758 by means of hypophysis crude extracts of *Gallus domesticus*. In: BILLARD, R.; FLAJSHANS, M.; GELDHAUSER, F.; KOURIL, J.; PENAZ, M. and RAB, P. (Ed.) Proceedings of the international workshop on the biology and culture of the tench *Tinca tinca* (L.) 1758, held in hoard hunting lodge by Hluboka nad Vlatavou, Czech Republic, 28 August – 1 september, 1994. vol. 42 n. 1 – 2, 1995, pp. 69 – 73.

ARAÚJO, J.; ALVAREZ-LAJONCHERE, L. SILVA, I. D.; CERQUEIRA, V. R. Effect of salinity on hatching, swim bladder inflation, growth rate, and survival in fast snook, *Centropomus parallelus* Poey, larvae. In: Aquaculture Brasil'98, 1998, Recife, v.2, **anais...** Recife: AquacultureBrasil'98, 1998. pp. 583-592

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: Editora da Universidade Federal de Santa Maria, 212p., 2002.

BERNARDINO, G.; SENHORINI, J. A.; FONTES, N. A.; BOCK, C. L.; MENDONÇA, J. O. J. Propagação artificial do matrinchã, *Brycon cephalus* (GUENTHER, 1869), (TELEOSTEI, CHARACIDAE). **Bol. Téc. CEPTA**, Pirassununga, v. 6, n. 2, pp. 1-9, 1993.

BOX, G. E. P.; COX, D. R. An analysis of transformation. **J. Roy, Stat. Soc.**, Ser.B, v. 26, pp. 211-243, 1964

BRITSKI, H. A.; SATO, Y.; ROSA, A. B. S. **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias**: com chaves de identificação para os peixes da bacia do São Francisco. Brasília: Câmara dos Deputados – CODEVASF, 2ª Ed., 1986. 115p. il.

BROMAGE, N. Broodstock management and seed quality – general considerations. In: Bromage, N. R.; Roberts, R. J. (Ed.). **Broodstock Management and Egg and Larval Quality**. Oxford: Blackwell Science. 1995. p. 1 - 24

BROMAGE, N.; JONES, J.; RANDALL, C.; THRUSH, M.; DAVIES, B.; SPRINGATE, J.; DUSTON, J.; BARKER, G. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 100, pp. 141-166, 1992.

BRZUSCA, E. Artificial spawning of carp *Cyprinus carpio* L.: differences between the effects on reproduction in females of Polish and Hugarian provenance treated with carp pituitary and (D-Ala<sup>6</sup>) GnRH ProNHet (Kobarelin). **Aquaculture Research**, v. 31, pp. 457-465, 2000.

BRZUSCA, E. Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.: differences between propagation results after stimulation of ovulation with with carp pituitary and Ovopel. **Aquaculture Research**, v. 32, pp. 11-19, 2001.

BRZUSCA, E.; BIALOWAS, H. Artificial spawning of carp *Cyprinus carpio* (L.). **Aquaculture Research**, v. 33, pp. 753-765, 2002.

CASTAGNOLLI, N; TONIOLO, G. M. Desova induzida de peixes reofílicos. **Ciênc. Cult.**, v.32, n.3, p.337-343, 1980.

CASTRO, R.M.C; VARI, R.P. Prochilodontidae. In: Backup, P.A. e Menezes, N.A. (eds.) Catálogo dos Peixes Marinhos e de Água Doce do Brasil. 2.ed. 2003. URL: <http://www.mnrj.ufrj.br/catalogo>, acessado dia 26.08.2004.

CHAUDHURI, H. Use of hormones in induced spawning of carps. **J. Fish. Res. Board Can.**, v.33, p.940-947, 1976.

CHELLAPPA, S.; CACHO, M. S. R. F.; HUNTINGFORD, F. A.; BEVERIGE, M. C. M. Observations of induced breeding of the amazonian fish tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier) using CPE and HCG treatments. **Aquaculture Research**, v.27, n.2, pp. 91-94, 1996.

CRIM, L. W.; SHERWOOD, N. M.; WILSON, C. E. Sustained hormone release. II. Effectiveness of LHRH Analog (LHRHa) administration by either single time injection or cholesterol pellet implantation on plasma gonadotropin levels in a bioassay model fish, the juvenile rainbow trout. **Aquaculture**, v. 74, pp. 87-95, 1998.

DONALDSON, E. M.; HUNTER, G. A. Induced final maturation, ovulation, and spermiation in cultured fish. In: HOAR, W.S.; RANDALL, D. J., DONALDSON, E. M. (Ed.) **Fish Physiology**. Reproduction vol. IXB. Orland: Academic Press. 1983, p.351-403.

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

ECKMANN, R. Reproduccion inducida mediante hipofizacion en *Prochilodus cf. nigricans* y *Brycon cf. erythropterus*. **Mems. Asoc. Latinoam. Acuicult.**, v.5, n.3, p.563-566, 1984b.

FONTAINE, M. Hormones and the control of reproduction in aquaculture. **J. Fish. Res. Board Can.**, v.33, p.922-939, 1976.

FONTELES FILHO, A. A. F. **Recursos pesqueiros: biologia e dinâmica populacional**. Fortaleza: Imprensa oficial do Ceará, 1989, 256p il.

FORTUNY, A.; ESPINACH ROS, A.; AMUTIO, V.G. Hormonal induction of final maturation and ovulation in the Sábalo, *Prochilodus platensis* Holmberg: treatments, latency and incubation times and viability of ovules retained in the ovary after ovulation. **Aquaculture**, v.73, p. 373-381, 1988.

GODINHO, H. P.; GODINHO, A. L. Induced spawning of the pacu, *Colossoma mitrei* (BERG, 1895) by hypophysation with crude pituitary extract. **Aquaculture**, v.55, p. 69-73, 1986.

HARVEY, B. J.; HOAR, W. **The theory and practice of induced breeding in fish**. Ottawa: IDRC, 1979, 48p.

IHERING, R. von A method for inducing fish to spawn. **Progr. Fish-Cult.**, v.4, p.15-16, 1937.

IHERING, R. von; AZEVEDO, P. A desova e a hipofisação dos peixes. Evolução de dois Nematognathas. **Arq. Ins. Biol.**, v.7, n.9, p.107-117, 1936.

IZQUIERDO, M.S.; FERNÁNDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A. G. J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v.197, p. 25-42, 2001.

KING, H. R.; PANKHURST, N. W. Effect of maintenance at elevated temperatures on ovulation and luteinizing hormone releasing hormone analogue responsiveness of female Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Tasmania. **Aquaculture**, v.233, p. 583-597, 2004.

KOURIL, J. Induced ovulation of the female tench (*Tinca tinca* L.): effect of the numbers and levels pituitary injections on the results of stripping. **Prace VURH Vodnany**, n.16, pp. 53-61, 1987.

KOURIL, J.; HAMÁCKOVÁ, J.; ADÁMEK, Z.; SUKOP, I.; STIBRANYIOVÁ, I.; VACHTA, R. The artificial propagation and culture of young weatherfish (*Misgurnus fossilis* L.). In: KIRCHHOFER, A.; HELFTI, D. (Ed.). **Conservation of endangered freshwater fish in Europe**. Basel: Birkhäuser Verlag, 1996, pp. 305 – 310.

LEE, W. K.; YANG, S. W. Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female Korean spotted sea bass *Lateolabrax maculatus* (Jeon-nong-eo). **Aquaculture**, v. 207, pp. 169-183, 2002.

MAKINO, N.; KANEKO, S. I.; KOJIMA, E., TOHYAMA, T. Induction of oocyte maturation and ovulation with gonadotropic hormone injection in wild Japanese Sea Bass, *Lateolabrax japonicus*. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v.65, n.6, pp. 1042-1053, 1999.

MATEOS, J.; MAÑANOS, E.; CARRILLO, M.; ZANUY, S. Regulation of follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) gene expression by gonadotropin-release hormone (GnRH) and sexual steroids in the Mediterranean Sea Bass. **Comp. Biochem. and Physiol.** v.132 (part B), p. 75-86, 2002.

MATSUYAMA, M.; YOSHIHIDE, H.; MATSUURA, S. Effects of steroids on germinal vesicle breakdown in vitro of intact follicles in the japonese whiting, *Sillago japonica*, a marine teleost. **Comp. Biochem. Physiol.** v. 96, n. 2, p. 257-261, 1990.

MENDES, P. P. **Estatística aplicada à aqüicultura**. Recife: Bagaço, 1999. 265p. il.

MENEZES, R. S. **Hipofisação de peixes na prática de piscicultura.** Fortaleza: Ministério da Agricultura, Seção de fomento Agrícola do Ceará, 1954, 40p.

MENEZES, R. S. O método de hipofisação de peixes na piscicultura. **O Campo**, v.14, n.160, p.39-44, 1943.

MYLONAS, C. C; WOODS III, L. C.; THOMAS, P.; ZOHAR, Y. Endocrine profiles of female striped bass (*Morone saxatilis*) in captivity, during postvitellogenesis and induction of final oocyte maturation via controlled-release GnRHa-delivery systems. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 110, pp. 276-289, 1998.

MYLONAS, C.C.; MAGNUS, Y.; KLEBANOV, Y.; GISSIS, A.; ZOHAR, Y. Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. **J. Fish Biol.**, v.51, p. 234-250, 1997.

NARAHARA, M. Y.; ANDRADE-TALMELLI, E. F.; KAVAMOTO, E. T.; GODINHO, H. M. Reprodução induzida da pirapitinga-do-sul, *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819), mantida em condições de confinamento. **Rev. Bras. Zoot.**, v. 31, n. 3, pp. 1070-1075, 2002.

OBI, A.; EWEMADE, C. Homoplastic hypophysation of african catfish (*Clarias gariepinus*) using male, female and a combination of male and female hypophysis. **J. Aquaculture Tropics**, v. 14, n. 4, pp. 261-267, 1999.

PANKHURST, N. W.; VAN DER KRAAK, G.; PETER, R. E. Evidence that the inhibitory effects of stress on reproduction in teleost fish are not mediated by action of cortisol on ovarian steroidogenesis. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 99, pp. 249-257, 1995.

PETER, R. E.; LIN, H. R.; VAN DER KRAAK, G.; LITTLE, M. Releasing hormones, dopamine antagonists and induced spawning. In: MUIR, J. F.; ROBERTS, R. J, (Ed.) **Recent Advances in Aquaculture**. Vol. IV. Oxford: Blackwell. 1993. pp. 3 – 10.

PETER, R. E.; YU, K. L. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. **Rev. Fish Biol. and Fisheries**, v. 7, pp. 173-197, 1997.

REDDING, J. M., PATIÑO, R. Reproductive physiology. In EVANS, D. H. (ed.). **The physiology of fishes**. Boca Raton: CRC Press, 1993, p. 503 – 534.

SANTOS, A., J. G. **Fisiologia dos animais aquáticos: de uma maneira concisa e precisa (livro-guia de estudo)**. v. 1 (temperatura), Recife: UFRPE, 2003. 39p.

SANTOS, J. C. E. dos A pesca artesanal na represa de Três Marias em 2000/2001. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 12, 2001, Foz do Iguaçu. **Resumos...**Foz do Iguaçu: FAEP-BR. 2001. 1 CD-ROOM

SATO, Y. **Reprodução de peixes da bacia do rio São Francisco**: indução e caracterização de padrões. São Carlos: UFSCar, 1999. 179p (tese de doutorado).

SATO, Y., GODINHO, H. Peixes da bacia do rio São Francisco. In: Lowe-McConnel, R. H. (Ed.) **Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais**. Tradução Anna Emília A. de M. Vazzoler, Ângelo Antônio Agostinho, Patrícia T. M. Cunningham. – São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1999. pp. 401 - 423

SATO, Y.; CARDOSO, E. L.; GODINHO, A. L.; GODINHO, H. P. Hypophysation parameters of the neotropical fish *Prochilodus marggravii* obtained in hatchery station conditions. **Rev. Brasil. Biol.**, v.56, p.59-64, 1996a.

SATO, Y.; CARDOSO, E. L.; GODINHO, A. L.; GODINHO, H. P. Hypophysation of the fish *Prochilodus affinis* from the Rio São Francisco basin, Brazil. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zoot.**, v. 48 (supl. 1), pp. 55-61, 1996b.

SATO, Y.; CARDOSO, E. L.; GODINHO, A. L.; GODINHO, H. P. Hypophysation of the fish *Schizodon knerii* from the Rio São Francisco basin, Brazil. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zoot.**, v. 48 (suplem.), pp. 63-70, 1996c.

SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R.; VIEIRA, L. J. S. Artificial reproduction in *Salminus brasiliensis* (Pisces: Characidae) from the São Francisco river basin in Brazil. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 21, n. 3, pp. 113-116, 1997a.

SATO, Y.; CARDOSO, E. L.; SALLUM, W. B.; GODINHO, H. P. Indução experimental da desova do *Pseudoplatystoma coruscans*. In: MIRANDA, M. O. T. (Org.) **Surubim**. Belo Horizonte: IBAMA, 1997b. pp. 69-79 (Coleção Meio Ambiente, Série Estudos de Pesca, 19).

SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; GODINHO, H. P.; VERANI, J. R.; VIEIRA, L. J. S. Reprodução induzida do matrinhã *Brycon lundii* Reinhardt, 1877 da bacia do rio São Francisco. In: **SEMINÁRIO REGIONAL DE ECOLOGIA, 8**, 1997, São Carlos. **Anais...**São Carlos: PPG-ERN, UFSCar. 1997c. p. 353-359

SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R.; GODINHO, H. P.; SAMPAIO, E. V. Reproductive traits of the yellow-mandi catfish *Pimelodus maculatus* Lacepede (Osteichthyes, Siluriformes) in captive breeding. **Rev. Bras. Zool.**, v. 16, n. 4, pp. 981-986, 1999.

SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R.; GODINHO, H. P.; SAMPAIO, E. V. Induced reproduction and reproductive characteristics of *Rhinelepis aspera* Agassiz, 1829 (Osteichthyes: Siluriformes, Loricaridae). **Braz. Arch. Biol. Techn.**, v. 41, n. 3, pp. 309-314, 1998.

SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R.; VIEIRA, L. J. S.; GODINHO, H. P. Induced reproductive responses of the neotropical anostomid fish *Leporinus elongatus* Val. under captive breeding. **Aquaculture Research**. v. 31, pp. 189-193, 2000.

SCHEREK, C. B.; CONTRERAS-SANCHEZ, W.; FITZPATRICK, M. S. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. **Aquaculture**, v. 197, pp. 3-24, 2001.

SILVA FILHO, J. A. S. Contribuição ao estudo da reprodução induzida da piapara, *Leporinus obtusidens*, em cativeiro com o uso da hipófise fresca de piava catinguda, *Schizodon fasciatus* e Pregnyl. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 2**, 1981, Recife. **Anais...Recife: FAEP-BR**, 1981. pp. 179-185.

SILVA, A. B.; CARNEIRO SOBRINHO, A.; MELO, F. R. Desova induzida de tambaqui, *Colossoma macropomum* Curvier, 1818, com o uso de hipófise de curimatã comum *Prochilodus cearensis* Steindachner. **Col. Trab. Téc. DNOCS, 2**. pp. 519-531, 1981.

SMALL, B. C. Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of channel catfish. **J. Fish Biol.**, v. 64, pp. 589 – 596, 2004.

SVOBODA, M.; Kouril, J.; HAMACKOVA, J.; KALAB, P.; SAVINA, L.; SVIBODOVA, Z.; VYKUSOVA, B. Biochemical profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca* L.) during pre- and postspawning period. **ACTA VET. BRNO**, v. 70, pp. 259-268, 2001.

SVOBODOVÁ, Z.; KALÁB, P.; DUSEK, L.; VYKUSOVÁ, B.; KOLÁROVÁ, J.; JANOUKOVA, D. The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp. **ACTA VET. BRNO**, v. 68, pp. 265-274, 1999.

URBINATI, E. C. Estresse e sua importância para aqüicultura. In.: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 13**, 2003, Porto Seguro. **Anais...**Porto Seguro: FAEP-BR, 2003. 1. CD-ROOM

VERANI, J. R.; SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; VIEIRA, L. J. S. Avaliação de fêmeas ícticas aptas à indução reprodutiva: critério embasado no fator de condição relativo. In.: **SEMINÁRIO REGIONAL DE ECOLOGIA, 8**, 1997, São Carlos. **Anais...**, São Carlos: PPG-ERN/UFSCar, 1997. p. 323-332,.

VINATEA, L. **Aqüicultura e desenvolvimento sustentável: subsídios para a formulação de políticas de desenvolvimento da aqüicultura brasileira**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 1999. 310p. il.

WOYNAROVICH, E; HORVÁTH, L. **A propagação de peixes de águas tropicais: manual de extensão**. Tradução de Vera Lúcia Mixtro Chama. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 1989, 225 p.

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

YARON, Z; ZOHAR, Y. An Overview. In: MUIR, J. F.; ROBERTS, R. J. (Ed.) **Recent Advances in Aquaculture**. Vol. IV. Oxford: Blackwell. 1993. pp. 3 – 10.

ZANIBONI FILHO, E.; BARBOSA, N. D. C. Priming hormone administration to induce spawning of some brazilian migratory fish. **Rev. Brasil. Biol.**, v.56, n.4, p.665-659, 1996.

ZANUY, S; CARRILLO M. La reproducción de los teleósteos y su aplicación em acuicultura. In: MONTEROS, J. E.; LABARTA, U. (Ed.) **Reproduccion en acuicultura**. Madrid: Industrias graficas España. 1987. pp. 1 – 132.

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

ZOHAR, Y.; MYLONAS, C. C. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. In: LEE, C.; DONALDSON, E. M. (Ed.), **Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture (Proceedings of a Workshop hosted by the Oceanic Institute, Hawaii, USA in Honolulu, 4 – 7<sup>th</sup> October 1999)**. Amsterdam: Elsevier. 2001. pp. 99 – 136.

ZUIM, S. M. F.; ROSA, A. A. M.; CASTAGNOLLI, N. Sex and sexual cycle influences over metabólic parameters in pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Proc. Aquacult. Int. Congr.**, Vancouver, p. 74, 1988.