



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE PESCA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS  
PESQUEIROS E AQUICULTURA - PPG-RPAq  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM AQUICULTURA - MESTRADO

MANLIO PONZI JUNIOR

OTIMIZAÇÃO DA TAXA DE FERTILIZAÇÃO E ECLOSÃO DE LARVAS DE  
TAMBAQUI, *Colossoma macropomum*  
(CUVIER, 1816) ABOLINDO INSTRUMENTOS.

RECIFE  
2003

OTIMIZAÇÃO DA TAXA DE FERTILIZAÇÃO E ECLOSÃO DE LARVAS DE  
TAMBAQUI, *Colossoma macropomum*  
(CUVIER, 1816) ABOLINDO INSTRUMENTOS.

MANLIO PONZI JUNIOR

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO PROGRAMA  
DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS  
PESQUEIROS E AQUICULTURA DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE  
PERNAMBUCO, COMO REQUISITO PARA  
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM  
RECURSOS PESQUEIROS E  
AQUICULTURA.

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ MILTON BARBOSA

RECIFE  
2003

Catálogo na fonte  
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

P819o

Ponzi Junior, Manlio.

Otimização da taxa de fertilização e eclosão de larvas de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) sem instrumentos / Manlio Ponzi Junior.- 2003.

23 p. : il.

Orientador: José Milton Barbosa  
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros) -  
Universidade Federal Rural de Pernambuco.  
Departamento de Pesca.  
Bibliografia.

CDD 636.9

1. Tambaqui
  2. Instrumentos
  3. Ovos
  4. Eclosão
  5. Larvas
  6. *Colossoma macropomum*
  7. Produção
  8. Aqüicultura
- I. Barbosa, José Milton  
II. Título

OTIMIZAÇÃO DA TAXA DE FERTILIZAÇÃO E ECLOSÃO DE LARVAS DE  
TAMBAQUI, *Colossoma macropomum*  
(CUVIER, 1816) ABOLINDO INSTRUMENTOS.

POR: MANLIO PONZI JUNIOR

ESTA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE

MESTRE EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

E APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS  
PESQUEIROS E AQUICULTURA

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez (UFRPE)  
Coordenador do PPG-RPAq

---

Prof. Dr. José Milton Barbosa (UFRPE)  
Orientador

---

Prof. Dr. George Nilson Mendes (UFPE)

---

Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez (UFRPE)

---

Prof. Dr. Athiê Jorge Guerra Santos (UFRPE)

---

Prof. Dr. William Severi (UFRPE)

## DEDICATÓRIA

À MINHA:

MÃE: MARIA DE JESUS ALMEIDA PONZI,

ESPOSA: CICLEIDE MARIA DOS SANTOS

AO MEU:

PAI: MANLIO PONZI

AOS MEUS FILHOS: ALESSANDRA PONZI E

MANLIO PONZI TERCIUS

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar junto a mim em todos os momentos e iluminando meu caminho durante este percurso.

Ao Prof. Dr. José Milton Barbosa, pela orientação, amizade, pelo estímulo e confiança durante todo este período.

Ao Prof. MSc. José Carlos Nascimento, UFRPE pelo execução dos trabalhos de microscopia eletrônica de varredura e auxílio em todas as fases de realização deste trabalho.

À Prof. Dra. Izairas Pereira Padovan, da UFPE, pela preparação do material destinado à microscopia de varredura.

Ao Prof. MSc. Luiz Lira, pelo apoio irrestrito na realização desta dissertação.

Aos Profs. Dr. Athiê Jorge Guerra e MSc. Aradi Rodrigues de Melo pelo apoio e incentivo para a elaboração deste trabalho.

Aos Eng<sup>o</sup> de Pesca João Laurindo do Carmo, UFRPE e Augusto Nogueira da Silva, e demais funcionários da Estação de Aqüicultura Continental Professor Johei Koike pelo apóio durante os trabalhos de reprodução artificial.

Ao estagiário da Estação de Aqüicultura Continental Professor Johei Koike Carlos José Balcázar Pérez pela colaboração nas coletas de dados durante a incubação.

Ao técnicos da Estação do IBAMA Antônio Luiz Araújo Lima e demais funcionários, pelo apoio durante a fase experimental.

Aos professores do Mestrado em Recursos Pesqueiros Aqüicultura, Depto. de Pesca, UFRPE, pela compreensão, amizade e orientação.

Aos colegas do Curso de Mestrado, pelo companheirismo e amizade.

## RESUMO

A reprodução induzida de peixes é uma técnica dominada. No entanto, é possível que alguns procedimentos utilizados atualmente possam prejudicar a produção final de larvas. Assim, a utilização de instrumentos (penas de aves, espátulas) para mistura dos gametas, poderia ser um fator de redução da produção. Este trabalho teve como objetivo testar esta hipótese, utilizando-se como modelo experimental desovas de tambaqui, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1816). Para tal foi delineado um teste com duas condições: A - mistura dos gametas com utilização de instrumento (pena de ave) e B – mistura de gametas sem utilização de instrumentos (com agitação suave do vasilhame). Após a fertilização os ovos foram analisados por eletro-micrografia de varredura, o que comprovou a existência de danos causados pelos instrumentos à superfície dos mesmos. Na condição B a taxa de fecundação foi maior ( $F_{(1:14)} = 12,90$ ,  $p < 0,01$ ), assim como a de eclosão das larvas ( $F_{(1:14)} = 8,43$ ,  $p < 0,05$ ), o que deve ocorrer em virtude das lesões causada aos ovos pelos instrumentos. Desta forma, a não utilização de instrumentos é recomendável, pois otimiza a produção de larvas.

Palavras-chave: “*tambaqui*”, instrumentos, ovos, eclosão, larvas

## ABSTRACT

Reproduction by induction is a technic completely dominated, however is possible that some current proceedings utilized, would prejudice the larval production. Thus, the use of the instruments (fowl blume, spatula, etc), to blend the gamets, would can a factor to decrease the larval production. This work has as main objetive this hypothesis. For the experiment it was utilized the freshwater fish tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1816). To such, it was delineated a test with two conditions: A - blend the gamets with the use of the instruments , and B - blend the gamets without the use of the instruments (blend the gamets with the soft agitation of the vessel). After fertilization , the eggs were analised under a Scanning electron-microscope, thus were confirmed the existence of the damage realized by the instruments on the superficial structure. In B condition occurred a increasing rate of fecundation ( $F_{(1:14)} = 12,90$ ,  $p < 0,01$ ) and the larval hatching ( $F_{(1:14)} = 8,43$ ,  $p < 0,05$ ). Thus, the use of the instruments isn't to recommended for the enlargemented of larval production.

Key-words: "*Tambaqui*", instruments, eggs, eclosion, larval

## SUMÁRIO

Pág

1. Introdução.....	1
2. Material e métodos.....	4
2.1 Delineamento experimental.....	4
2.2 Pesagem, marcação e acondicionamento.....	5
2.3 Estimativa da taxa de fertilização e eclosão de larvas.....	7
2.4 Metodologia para microscopia de varredura.....	9
2.5 Variáveis físico-químicas.....	10
2.6 Análise estatística.....	10
3. Resultados.....	10
4. Discussão.....	14
5. Conclusão.....	17
6. Referências bibliográficas.....	17

LISTA DE FIGURAS	Pag
FIGURA 1 Tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> .....	5
FIGURA 2 Seleção dos reprodutores e matrizes de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> .....	6
FIGURA 3 Extrusão dos óvulos de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> .....	7
FIGURA 4 Fertilização e distribuição dos ovos de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> obtidos com e sem utensílios nas incubadoras.....	7
FIGURA 5 Taxa de fertilização de óvulos nas duas condições: A - com utilização de instrumento; B - sem utilização de instrumento.....	11
FIGURA 6 Taxa de eclosão de larvas nas duas condições: A - com utilização de instrumento; B - sem utilização de instrumento.....	11
FIGURA 7 Eletro-micrografia do ovo, com lesões, em que se utilizou instrumento para mistura dos gametas.....	12
FIGURA 8 FIGURA 8 Eletro-micrografia do ovo, sem lesões, em que não se utilizou instrumento para mistura dos gametas.....	13

## LISTA DE TABELAS

Pag

TABELA 1	Dosagens de LH-RH (comum) utilizadas para desova artificial de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> na Estação de Aqüicultura Continental Prof. Johei Koike.....	6
TABELA 2	Número de glândulas utilizadas durante a hipofiseação na Estação de Piscicultura Dr. Paulo Viegas.....	8
TABELA 3	Variável físico-químicas durante os experimentos.....	13
TABELA 4	Quadro de análise de variância das taxas de fertilização e eclosão das larvas do tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> (CUVIER, 816).....	14

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo Huet (1978) a prática da piscicultura é muito antiga, embora haja poucos registros sobre a atividade. Baixos relevos egípcios representam cenas de pesca e conservação de peixes cultivados em tanques artificiais. Os romanos cultivavam peixes em viveiros, como forma dos governantes oferecerem variedades aos seus convidados. A vários séculos povos da região Indopacífica e primeiramente os chineses cultivam peixes. Fan Li, em 475 a. C. já publicara na China um livro sobre a criação de peixes. A criação de larvas e o aproveitamento comercial do adulto só tiveram início por volta de 1933 (NOMURA, 1976).

No entanto, o grande entrave ao desenvolvimento da piscicultura, desde os seus primórdios, foi a reprodução, ademais, grande parte das espécies de boa qualidade não desova naturalmente em viveiros. Assim, desde o século XVI, ocorreram tentativas de reproduzir peixes em cativeiro. Em 1767, Jacobi desenvolveu, na Alemanha, a técnica de extrusão e fertilização artificial de ovos de truta; em 1842, Remy e Gehin, na França, redescobriram esta técnica e a puseram em prática, o que foi descrito posteriormente por Haxo em 1851; em 1860, Dubisch desenvolveu a técnica de reprodução de carpa-comum em viveiros especiais para desova (viveiros Dubisch) (WOYNAROVICH & HOTVÁTH, 1983). Sendo estas as primeiras iniciativas para reprodução artificial de peixes. Porém, o grande evento para a piscicultura, a reprodução induzida de espécies reofílicas ainda estaria por vir.

Rodolpho von Ihering, considerado pai da piscicultura no Brasil, afirmava, já em 1912, que devíamos criar peixes com a mesma facilidade com que criamos galinhas, e indicava algumas espécies indígenas dignas de serem criadas (IHERING, 1912) - nesta época Ihering ignorava que as nossas espécies reofílicas não desovavam em cativeiro. Ihering desenvolveu uma técnica bem sucedida para induzir as espécies reofílicas à desova, com injeção de extratos de glândulas pituitárias de outros peixes. Inicialmente tentou provocar a desova do dourado *Salminus maxilosus* em viveiro, com utilização de hormônios gonadotrópicos, extraído da urina de mulher grávida e depois macerados de hipófise de bagres, sem bons resultados. Logo após, em 1934, com auxílio do fisiologista Dorival Macedo Cardoso demonstrou que os macerados de hipófise eram

eficientes na maturação das gônadas de *Pimelodus maculatus* e *Franciscodoras marmoratus*. Com auxílio de Pedro de Azevedo, aplicou o método em *Prochilodus argenteus*, conseguindo sua ovulação e fecundação. Este método, chamado de hipofização, tornou-se mundialmente conhecido, passando a ser aplicado nas estações de piscicultura da Rússia e Estados Unidos (NOMURA, 1976).

As técnicas de desova induzida têm evoluído em todo o mundo, inclusive com a utilização de hormônios sintéticos, uma vez que esta prática tornou a reprodução regular e planejada, possibilitando o ingresso na piscicultura de grande número de espécies de peixes que não desovam naturalmente em cativeiro e que são promissoras para propagação artificial. O método inicialmente utilizado em peixes dulciaquícolas, atualmente tem sido largamente utilizado em espécies marinhas, como: salmão do Atlântico *Salmo* spp., salmão do Pacífico *Onchorhynchus* spp., tainhas *Mugil* spp. “dorada” *Sparus* sp. e *Crysophrys* sp. pampo *Trachinotus* spp. “salmón blanco” *Chanos chanos*, “pez limón” *Seriola* sp. (MORALES, 1986) “sea bass” *Dicentrarchus labrax* (PRAT, *et al*, 2001; FORNIÉS, 2001), “basses” *Morone* spp. (MYLOMAS: ZOHAR, 2001), dentre outros.

No Brasil, trabalhos posteriores aos de Ihering foram realizados por muitos pesquisadores, inclusive com o uso de hormônios sintéticos, destacando-se os de: Azevedo (1972); Menezes (1944); Silva *et al* (1978); Fontenelle (1981); Wooton (1984); Woynarovich (1983 e 1986); Carolsfeld *et al.* (1988); Zanibonni Filho (1992); Ramos (2000), dentre outros. Desde então, a criação e difusão desta técnica têm obtido grande avanço, sendo atualmente dominada e empregada para inúmeras espécies reofílicas, como é o caso do tambaqui no Brasil.

Atualmente o crescente interesse pela criação de organismos aquáticos torna imperativo que os criadores aprimorem as técnicas necessárias para assegurar o êxito da criação de peixes, especialmente no Brasil, onde as espécies nativas de peixes nobres são reofílicas, com destaque para diversas espécies amazônicas, como o tambaqui.

O tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1816) é uma das espécies peixes nativos mais importantes para a pesca, na região Amazônica, onde é um peixe

bastante apreciado pela população. No entanto, há evidências que a sua abundância nos lagos e nos rios esteja sendo reduzida pela superexploração pesqueira. A quantidade dessa espécie desembarcada pela frota pesqueira de Manaus diminuiu em 75% nos últimos 10 anos, produzindo 3.500 toneladas (IBAMA, 1995) e os peixes que chegam ao mercado são cada vez menores, atingindo peso abaixo de 2 kg ou menor que 40 cm, considerado como pesca predatória. Para reverter esta situação, é necessário regulamentar a técnica de pesca, mas ela depende de legislação específica e sua imposição, nem sempre é fácil de realizar em uma região onde o hábito de pescar é amplamente difundido na população e os recursos materiais e humanos para um controle efetivo são poucos (MCT, 2003).

Por outro lado, o tambaqui apresenta melhores características para a piscicultura, uma vez que, possui rápido crescimento, carne de grande aceitação e hábito alimentar diversificado, aceitando bem ração artificial e podendo ser criado em qualquer sistema de cultivo, especialmente, no Nordeste, onde as condições climáticas são excelentes para o bom desempenho desta espécie. Ademais, sua reprodução induzida está totalmente dominada e é realizada corriqueiramente nas estações de piscicultura.

O tambaqui é um caracídeo nativo da bacia Amazônica, Orinoco e seus afluentes. É o segundo maior peixe de escama do rio Solimões-Amazonas e o de maior importância econômica (GOULDING, 1982, *apud* WOYNAROVICH, 1986). Sua posição sistemática foi estudada por vários autores, pertence à família Characidae, ordem Characiformes (BRITSKI, 1977; MACHADO-ALISSON, 1982; SAINT PAUL; WERDER, 1981 SAINT PAUL, 1986; BARBOSA, 1992). Alcança 108 cm de comprimento total e 130 Kg de peso (PETRERE JR; IGFA, 2003) e atinge a maturidade sexual entre 2-3 anos para o macho e 3-4 anos para a fêmea (WOYNAROVICH; HORVÁTH 1983). Estas características justificam a sua importância na pesca e o reconhecimento do seu grande potencial para a aquicultura, além de ser considerado peixe símbolo da floresta tropical (GOULDING; CARVALHO 1982).

O nome “tambaqui”, usado no Brasil, é derivado do tupi (*tãba’ ki*) e não da língua portuguesa (CUNHA, 1989), na Bolívia, Peru e Equador, o tambaqui é, às vezes,

agrupado pelos pescadores junto com os pacus e tanto em espanhol quanto em português, pacu é derivado do tupi *pa'ku*, enquanto no Brasil, muitos peixes da mesma subfamília do tambaqui, Myleinae são chamados de pacu e este nome parece ter origem indígena. Os peruanos usam o nome “gamitana” para a espécie (ORTEGA; VARI, 1986). Na Colômbia e Venezuela, o “tambaqui” é chamado de “cachama” (MACHADO-ALLISON, 1982; TAPHORN, 1992). Os colombianos usam o nome “*cachama negra*”, em contraste com a *cachama blanca* para *Piaractus brachypomum* (ARAÚJO-LIMA; GOULDING, 1988).

O tambaqui é uma das espécies mais difundidas na piscicultura brasileira, devido às suas excelentes características, como rusticidade ao manejo e rápido crescimento (LOVSHIN, 1980). Em ambiente natural o tambaqui alimenta-se de zooplâncton, frutos, algas filamentosas, insetos aquáticos, caramujos e outros moluscos, aceitando inclusive ração artificial (HONDA, 1972).

É uma espécie de piracema, desova uma vez durante o período das chuvas por isso, quando cultivado em cativeiro, sua desova só é possível através da técnica da hipofisacção (WOYNAROVICH, 1986).

Introduzida na região Nordeste no início da década de 70, pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) a sua propagação artificial foi estimulada a partir de 1977 através do Centro de Piscicultura de Pentecostes, CE. Em 1983 e 1984, a propagação do tambaqui já se fazia em escala comercial, sendo considerado como um peixe nobre de grande importância para a piscicultura nacional. Esta conclusão foi obtida a partir dos primeiros ensaios em cativeiros, os quais mostraram sua grande potencialidade (MOLLE; CADIER, 1992).

A reprodução induzida de tambaqui é realizada com sucesso no Brasil e em outros países do mundo, não havendo dificuldades na aplicação desta técnica. O maior entrave é a formação de reprodutores, que em condições experimentais pode chegar a 3,5 anos para que os primeiros indivíduos estejam aptos à reprodução induzida, com o alto custo de US\$ 5,13/kg de reprodutor (CHABALIN, *et al.*, 1993) o que sugere a necessidade de otimizar a reprodução, para evitar o alto custo das pós-larvas e alevinos.

Por isso as técnicas de reprodução artificial para produção de pós-larvas e alevinos, desenvolvida nas Estações de Piscicultura e a maneira como vêm sendo executada pode necessitar de alguns cuidados no manejo dos óvulos, visando a melhoria da produtividade nesta atividade, o que justifica o presente trabalho.

Durante a indução à desova, a extrusão dos produtos sexuais (óvulos e sêmen) é a fase mais delicada de toda operação e a fertilização dos ovócitos pode ferir a membrana dos mesmos durante o processo de hidratação, causando eclosão precoce, diminuindo o percentual de sobrevivência das larvas.

Além deste fato, é possível que diferenças na utilização do método, associadas a fatores climáticos, possam influenciar as taxas de fecundação e eclosão. Pinheiro e Silva (1988) a partir de dados de várias desovas de tambaqui realizadas nas estações da Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco (CODEVASF) com utilização de metodologia tradicional, apresentam os seguintes resultados: a taxa de fertilização de ovúlos variou 60,6 a 68,2% e a sobrevivência das larvas de 58,9% a 66,7, com uma temperatura da água variando de 25-31°C. Zaniboni Filho e Barbosa (1992), relatam que, para se obter uma boa fertilização e uma boa percentagem de eclosão de larvas, deve-se adequar a vazão à densidade de estocagem durante a incubação dos ovos.

Woynarovich (1980) confirma que a reprodução artificial é praticada de diferentes maneiras em diversas partes do mundo, para as mesmas espécies. Não há uma tecnologia única, padronizada para a reprodução artificial, na maioria dos casos, o criador de peixes adota a técnica que ele julga ser a mais fácil de aplicar e que fornece bons resultados; entretanto, o grau de sucesso pode não ser o mesmo para os diferentes métodos. No entanto, a utilização de instrumentos (penas, espátulas ou a própria mão) é comum independente destas variações.

Vale ressaltar que não foram encontrados na literatura trabalhos sobre o grau de sensibilidade dos óvulos recém extrusados e até que ponto a manipulação dos gametas, compromete a estrutura da membrana dos ovos causando eclosão precoce ou morte do embrião. Mas, é possível que o uso de instrumentos para mistura dos produtos sexuais possam causar injúria aos ovos, que apresentam membranas muito

delicadas e, conseqüentemente, sensível à abrasão. Se isso realmente ocorre, a resposta que se precisa obter é se a abolição do uso de instrumentos melhora o desempenho reprodutivo dos peixes, justificando a utilização desta prática na piscicultura, por dois fatores, aumento da eficiência do método e da facilidade de execução.

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo verificar se a abolição do uso de instrumentos, utilizados na mistura de produtos sexuais, aumenta a sobrevivência, otimizando a produção de larvas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos foram realizados três séries de desova em dois diferentes locais: Estação de Aqüicultura Continental Prof. Johei Koike do Departamento de Pesca (DEPESCA), da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizada no Município do Recife, PE e Estação de Piscicultura Dr. Paulo Viegas do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), localizada no Município de Ipojuca, PE, considerando-se duas condições: A – com utilização de utensílio (pena de ave) para mistura dos gametas (óvulos e espermatozóides); B – sem utilização de utensílios, com oito réplicas por condição. Para cada uma das três séries foram selecionados oito machos e quatro fêmeas de tambaqui (FIGURA 1), para os trabalhos de reprodução, totalizando doze desovas.



FIGURA 1 - TAMBAQUI *Colossoma macropomum*.

Duas séries de desova foram realizadas na Estação de Aqüicultura Continental Prof. Johei Koike. A primeira foi efetuada no período de 4 a 10 de novembro, e a segunda, no período de 16 a 19 de dezembro de 2002.

Os exemplares foram previamente selecionados de viveiros medindo 1.800 e 5.000 m<sup>2</sup>, estocados na densidade de 1 kg/10 – 15 m<sup>2</sup> e alimentados com ração contendo 26,4% de proteína bruta, na proporção de 2% da biomassa/dia.

A captura dos peixes foi realizada com rede de malha (2,5 cm entre nós), evitando traumatismo durante o manejo. Antes da reprodução foi realizada uma nova seleção, com base nos caracteres sexuais secundários (ZANIBONI FILHO; BARBOSA, 1982). Para seleção dos reprodutores com maturação gonadal adequada, os machos foram submetidos a uma leve pressão no abdômen, deixando fluir sêmen e as fêmeas apresentavam gônadas bastante desenvolvidas com o abdômen proeminente e macio e com a papila genital avermelhada e dilatada. Após a seleção (Figura 2), os peixes foram transportados ao laboratório da Estação de Aqüicultura em sacos plásticos.

## 2.2. PESAGEM, MARCAÇÃO E ACONDICIONAMENTO

No laboratório, os exemplares foram pesados e marcados com fio colorido, atados por transfixação dorsal, na altura do primeiro raio da nadadeira dorsal e mantidos, separados por sexo, em tanques de dimensões 3mx1mx0,8m, com fluxo d'água contínuo.



FIGURA 2 – SELEÇÃO DOS REPRODUTORES E MATRIZES DE TAMBAQUI  
*Colossoma macropomum*.

Foram selecionados quatro fêmeas e oito machos para indução à reprodução, feita através de aplicação de hormônio sintético LH-RH comum (gonadorelina) em duas doses nas fêmeas, com intervalo de 12 horas e uma dose estimulativa nos machos (Tabela 1).

TABELA 1 – DOSAGENS DE LH-RH COMUM (GONADORELINA) UTILIZADAS PARA DESOVA ARTIFICIAL DE TAMBAQUI *Colossoma macropomum* NA ESTAÇÃO DE AQUICULTURA CONTINENTAL PROF. JOHEI KOIKE.

Sexo	Dosagem de LH-RH <sub>(a)</sub> (µg/peixe)	
	1ª Dose	2ª Dose
Machos	-	50
Fêmeas	100-250	250-400

Uma hora após a segunda dose deu-se início à contagem das horas-grau (leitura tomada de hora em hora da temperatura da água onde estão as fêmeas, até alcançar 240 horas-grau), tempo necessário para a ovulação.

Quando ocorreu a ovulação, observado pelo movimento em círculos de dois machos, as fêmeas foram retiradas do tanque, para realização da extrusão dos óvulos (Figura 3) mediante pressão abdominal, feita em bacias plásticas secas e taradas.

Paralelamente, foi coletado o sêmen de dois machos, para cada desova, dando-se a fertilização.



FIGURA 3 – EXTRUSÃO DOS ÓVULOS DE TAMBAQUI *Colossoma macropomum*.

Os óvulos foram pesados nas bacias (300g para cada incubadora) e levados para as incubadoras (220L) (Figura 4).



FIGURA 4 - FERTILIZAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DOS OVOS DE TAMBAQUI *Colossoma macropomum*.

### 2.3. ESTIMATIVA DA TAXA DE FERTILIZAÇÃO E ECLOSÃO DE LARVAS

Foram coletadas amostras de ovos (100 unidades/incubadora) entre 5 e 6 horas após a fertilização (ZANIBONI FILHO; BARBOSA, 1992) em três diferentes profundidades com o auxílio de um tubo de vidro. Estas amostras foram colocadas numa placa de *Petri*, para avaliação da fertilização (% de ovos fertilizados).

A estimativa da taxa de eclosão foi realizada entre 10 e 12 horas após a fertilização, com a utilização do mesmo método e o auxílio de um estereomicroscópio (9x), de forma que o desenvolvimento embrionário foi classificado pela coloração dos ovos (transparência), pelo diâmetro do espaço perivitelínico e pela observação do desenvolvimento embrionário.

Nestas séries foram utilizadas oito incubadoras de 220L, nas quais a vazão foi mantida em cerca de 7L/min, no início da incubação, sendo reajustada para 10L/min após o fechamento do blastóporo.

A outra série foi realizada na Estação de Piscicultura Dr. Paulo Viegas, no período de 26 a 28 de novembro de 2002.

Os exemplares de tambaqui *Colossoma macropomum* foram capturados em viveiros medindo 0,5ha, estocados na densidade de 1 kg/15m<sup>2</sup>, onde foi ofertada ração extrusada na proporção de 2% da biomassa/dia.

A captura dos peixes foi realizada com rede de emalhar (4cm entre nós). A seleção e a marcação foram feitas da mesma forma que nas etapas antes descritas.

A indução à reprodução foi realizada pelo método baseado em Woynarovich (1986), com o uso de hipófise seca de carpa-comum, em duas doses para as fêmeas, com intervalo de 12 horas, e uma dose para os machos (Tabela 2).

TABELA 2 - PESO DE GLÂNDULAS UTILIZADAS DURANTE A HIPOFISAÇÃO NA ESTAÇÃO DE PISCICULTURA DR. PAULO VIEGAS.

Sexo	Dosagem (mg/kg de peixe)	
	1 <sup>a</sup> Dose	2 <sup>a</sup> Dose
Machos	-	1
Fêmeas	1	5

Uma hora após a segunda dose, deu-se início à contagem das horas-grau, até alcançar 180-190 horas-grau, intervalo para a ovulação, com utilização de hipófise.

Foram utilizadas oito incubadoras (60L), com vazão de 3-5L/min, no início da incubação, sendo reajustada para 5L/min após o fechamento do blastóporo.

#### 2.4. METODOLOGIA PARA MICROSCOPIA DE VARREDURA.

As amostras de ovos tratadas com e sem a utilização de utensílios foram fixadas, enquanto vivas, em glutaraldeído a 2,5% tamponado com cacodilato, na temperatura de 4°C durante três horas. Em seguida, lavadas em solução do mesmo tampão e desidratadas em bateria crescente de álcool etílico.

Para a obtenção do ponto crítico utilizamos o hexamethyldisilazane (HMDS) diluído em etanol na seguinte proporção: 2:1; 1:2; 1:1; 1:3 e 100%.

Posteriormente, o material foi fixado com uma fita de carbono dupla face em placas de alumínio com formato de dimensões 2 X 2 cm.

As amostras foram metalizadas com ouro Standard em metalizador BAL-TEC modelo SDC 050 ELMITEC observados e fotografados ao microscópio eletrônico de varredura JOEL, modelo JSM 5900 do Departamento de Física da UFPE.

## 2.5. VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS

Foram monitoradas, a cada 12 horas (pela manhã e a tarde) as principais variáveis físico-químicas, a saber: temperatura (°C), oxigênio dissolvido (mg/L), pH, além da vazão.

## 2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA), complementada com teste de Tukey, com utilização do programa ESTAT, desenvolvido na UNESP, Campus de Jaboticabal, após a verificação da homogeneidade dos dados com aplicação do Teste de Cochran.

## 3. RESULTADOS

Na condição B, em que não foi utilizado instrumento para a mistura dos produtos sexuais ocorreu maior taxa de fertilização de óvulos, 70,6% contra 54,0% na condição A, em que se utilizou instrumento para mistura: pena de galináceo ( $F_{(1:14)} = 12,90$ ,  $p < 0,01$ ), o que corresponde a um incremento de 30,8% (Figura 5). A taxa de eclosão também foi superior na condição B, 70,6%, contra 45,9% na condição A ( $F_{(1:14)} = 8,43$ ,  $p < 0,05$ ), o que corresponde a um incremento de 53,7%. (Figura 6). A taxa de sobrevivência ovo/larva foi de 49%.

A utilização de instrumentos causa danos na superfície do ovo, visíveis nas imagens obtidas através de microscopia eletrônica de varredora, com aumentos que variaram de 370 a 8 mil vezes (Figura 7). Enquanto, os ovos cujos produtos sexuais foram misturados sem utilização de instrumentos não apresentaram sinais de traumatismo (Figura 8).

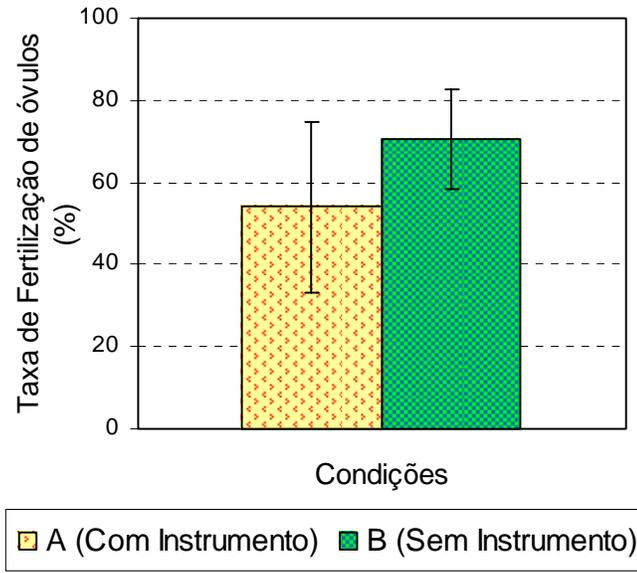


FIGURA 5 – TAXA DE FERTILIZAÇÃO DE ÓVULOS DE TAMBAQUI NAS DUAS CONDIÇÕES: A - COM UTILIZAÇÃO DE INSTRUMENTO; B - SEM UTILIZAÇÃO DE INSTRUMENTO.

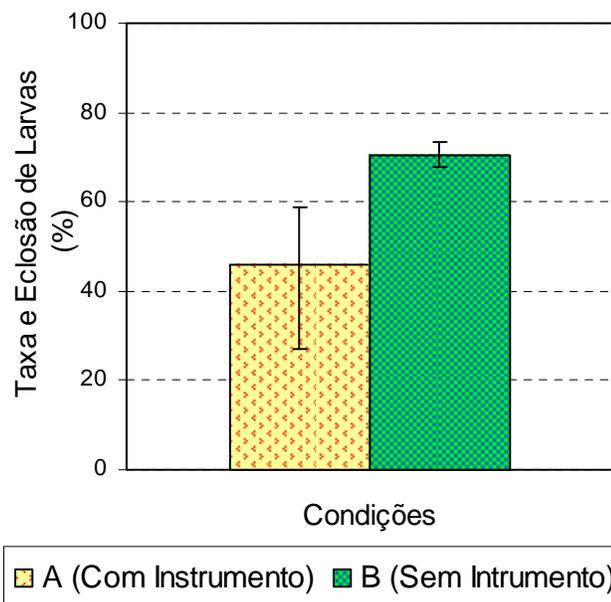


FIGURA 6 – TAXA DE ECLOSÃO DE LARVAS DE TAMBAQUI NAS DUAS CONDIÇÕES: A - COM UTILIZAÇÃO DE INSTRUMENTO; B - SEM UTILIZAÇÃO DE INSTRUMENTO.

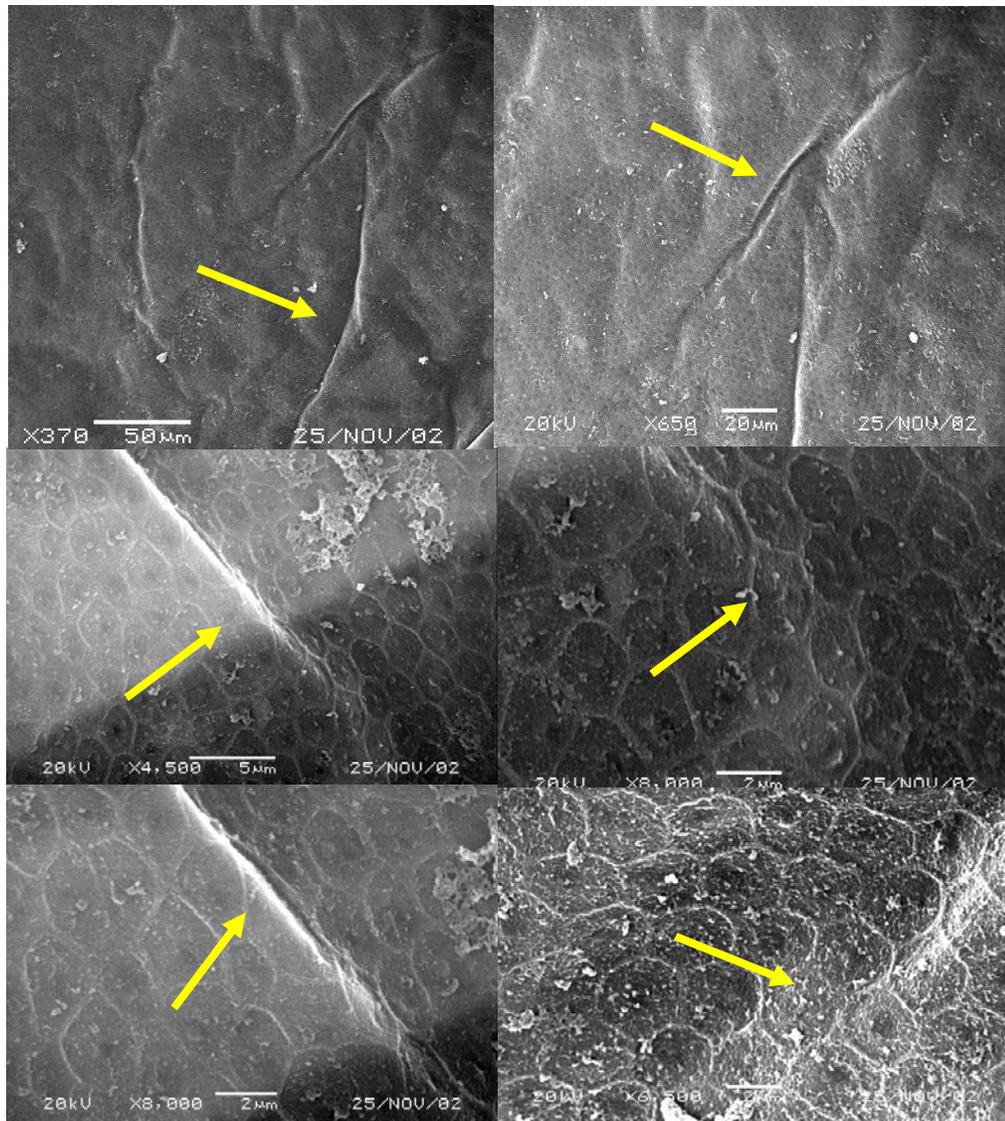


FIGURA 7 - ELETRO-MICROGRAFIA DO OVO, COM LESÕES, EM QUE SE UTILIZOU INSTRUMENTO PARA MISTURA DOS GAMETAS DE TAMBAQUI.

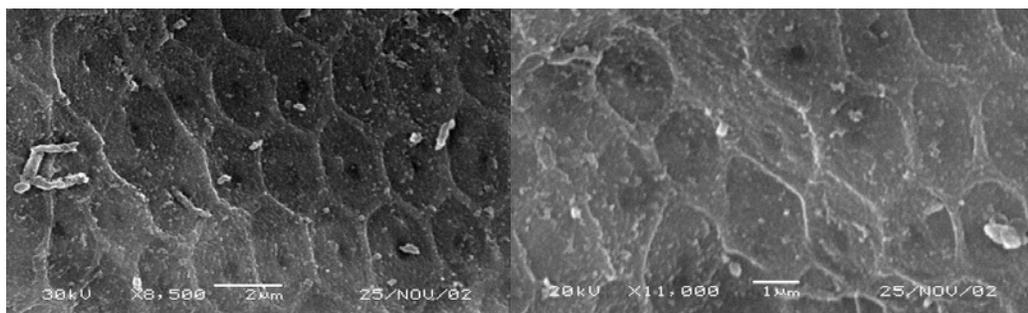


FIGURA 8 - ELETRO-MICROGRAFIA DO OVO, SEM LESÕES, EM QUE NÃO SE UTILIZOU INSTRUMENTO PARA MISTURA DOS GAMETAS DO TAMBAQUI.

As variáveis físico-químicas da água apresentaram pequenas variações durante o experimento, porém mantiveram-se dentro dos padrões aconselháveis para a espécie: a temperatura variou de 27 a 29°C o oxigênio dissolvido de 5,5 a 7,5 mg/L e o pH de 6,5 a 7,0. A vazão variou de 3 a 5L/min (incubadoras de 60L) e 7-10L/min (incubadoras de 220L) (Tabela 3).

TABELA 3 – VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS DURANTES OS EXPERIMENTOS.

Variável	Temp. (°C)		O <sub>Dissolvido</sub> (mg/L)		pH		Vazão (L/min)	
	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.
Dados	27	29	5,5	7,5	6,5	7,0	3-5	7-10

A aplicação do Teste de Cochran comprovou a normalidade dos dados, possibilitando a avaliação por análise de variância (ANOVA) cujo resumo encontra-se na Tabela 4.

TABELA 4 – QUADRO COMPARATIVO DAS TAXAS DE FERTILIZAÇÃO E ECLOSÃO DAS LARVAS DO TAMBAQUI, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1816).

CONDIÇÕES	Estimativa da taxa de fertilização e eclosão de larvas (%)	
	Taxa de fertilização	Taxa de eclosão
Com instrumento	54,01 <sup>b</sup>	45,93 <sup>b</sup>
Sem instrumento	70,64 <sup>a</sup>	70,58 <sup>a</sup>
F <sub>Calculado</sub>	12,90 <sup>**</sup>	8,43 <sup>*</sup>

CONDIÇÕES SEGUIDAS DE LETRAS DISTINTAS APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS (TESTE DE TUKEY) (\*\* = P < 0,01 E \* = P < 0,05).

#### 4. DISCUSSÃO

A técnica tradicional de reprodução artificial, para espécies reofílicas, é considerada dominada. Atualmente busca-se o aperfeiçoamento desta técnica e o uso de novos insumos capazes de melhorar o rendimento ou facilitar os trabalhos de indução como por exemplo o uso de hormônios sintéticos ou análogos, com resultados diversos de acordo com a espécie ou as condições de utilização. Prat *et al.* (2001) testou o uso de pimizida associado a um análogo de GnRH, na indução a maturação final de *Dicentrarchus labrax*, mas concluiu que o análogo sozinho é eficiente, não havendo vantagem no uso da pimizida. Mylomas e Zohar (2001) estudou a regulação endócrina e indução artificial e espermição em peixes do gênero *Morone*. FORNIÉS *et al* (2001) usou diferentes GnRH mensageiros e concluiu que GnRH simples pode induzir a múltiplas desovas, sem efeitos negativos na qualidade dos ovos de *Dicentrarchus labrax* Szabó *et al.* (2002) utilizou extrato pituitário ou GnRH, usando a dopamina como receptor antagonista de domperidona na indução a ovulação do ciprinídeo *Chondrostoma nasus*, concluindo que a dopamina é forte inibidor da ovulação. Marino *et al.* (2003), trabalhando com o peixe marinho *Ephinephelus marginatus* verificou que o uso controlado de GnRH é eficiente para produção de bons ovos, enquanto Mikolajezik (2003) afiançou que o uso do análogo *Azagry* é um método alternativo na indução a evolução de ciprinídeos. Neste trabalho utilizou-se LH-RH análogo e hipófise bruta de carpa *Cyprinus carpio*, sem qualquer artifício, método que mostrou-se eficaz para indução a ovulação.

No entanto, a mudança de alguns procedimentos pode provocar a obtenção de percentuais mais altos de fertilização e aumento da sobrevivência das larvas como, por exemplo, a abolição da utilização de instrumentos (penas de aves, espátula de plástico ou borracha e a própria mão) na mistura dos produtos sexuais, procedimento utilizado corriqueiramente nas estações de piscicultura, mas que pode causar danos aos ovos, pela abrasão do contato direto dos mesmos com matérias mais rígidos, pela fragilidade que apresentam. Os ovos hidratados são mais frágeis que os não ou semi-hidratados por isso, tornam-se muito sensíveis contra ferimentos mecânicos nas primeiras horas de seu desenvolvimento (WOYNAROVICH, 1986). Esta assertiva, esta de acordo com Zaniboni Filho (1992), segundo o qual quando os ovos estão

completamente hidratados e a segmentação do pólo animal foi iniciada, os ovos se mostram muitos sensíveis aos choques, sendo desaconselhável qualquer manejo, de forma que a utilização de instrumentos pode afetá-los, causando danos, reduzindo a taxa de sobrevivência ovo/larva.

No presente trabalho presume-se que esta hipótese é verdadeira: a utilização de instrumentos provoca a redução das taxas de fertilização e eclosão de larvas. Desta forma, é possível sugerir a mudança da técnica para mistura dos gametas utilizar apenas uma leve agitação da vasilha que contém os produtos sexuais. Esta agitação deve ser feita com bastante cuidado, de forma a possibilitar uma mistura homogênea dos gametas, sem injuriar os ovos. Embora esta providência possa parecer algo simples, o fato é que sua adoção aumenta de forma significativa à produtividade durante o processo de reprodução.

A taxa de fertilização média encontrada com uso do método tradicional foi de 54,0% e de eclosão de 46,6%, enquanto que sem a utilização de instrumentos estas taxas aumentaram para 70,6%, na fertilização e 70,1% na eclosão, o que corresponde a um incremento de 30,8% na taxa de fertilização de ovos e 53,7% na taxa de eclosão de larvas, com temperatura adequada para a espécie e vazão controlada para manutenção do bem estar dos ovos.

Dados comparativos com respeito às taxas de sobrevivência, durante o processo reprodutivo, com utilização do método tradicional, podem se encontrados na literatura, como, por exemplo, os de Diniz (1986) que conseguiu 80% de eclosão usando 200 gramas de ovos por incubadora, mas não especificou que vazão foi utilizada e nem de que maneira ocorreu a mistura dos gametas. Vasconcelos (1985) trabalhou com 100-200 gramas de ovos, com vazão média de 5L/min, entretanto não especificou qual foi o percentual de eclosão alcançado. Em outros trabalhos com a mesma espécie, citados por Pinheiro *et al.* (1988), foram encontradas taxas que variam de 63,5 a 78,5% na fertilização de ovos e 59,7 a 77,9% na eclosão de larvas, utilizando pena de ave para mistura dos produtos sexuais. Enquanto, Zaniboni Filho (1992), conseguiu taxas de eclosão que oscilaram entre 65,0 e 93,9%, de acordo com o local da incubadora onde os ovos ou as larvas foram coletados para contagem.

Os resultados obtidos no presente trabalho são muito significativos e justificam a implantação da nova técnica nas estações de piscicultura, pois as taxas ovo/pós-larva, que neste trabalho alcançou 49% é superior às encontradas por outros autores nos quais se utilizou a técnica tradicional como, Zaniboni Filho e Barbosa (1992) e Pinheiro e Silva (1988), que encontraram taxas de sobrevivência que variaram de 40,2 a 44,8%.

Não foram encontradas na literatura referências à não utilização de instrumentos para mistura de produtos sexuais na reprodução artificial, o que não permite uma discussão mais ampla sobre o assunto. No entanto, as referências sobre a técnica atualmente utilizada citam o uso de instrumentos, o que deve ser evitado, pois como verificou-se neste trabalho, através de microscopia eletrônica de varredura, os mesmos causam enrugamento, arranhões e fissuras na superfície do ovo o que deve ocorrer em função do choque mecânico. Estas injúrias não ocorrem quando não se utilizam estes instrumentos, o que resulta na obtenção de maiores taxas de fertilização e eclosão.

As taxas de fertilização de óvulos e eclosão de larvas podem ser afetadas por outros fatores. Um desses fatores pode ser a densidade. No entanto segundo Zaniboni Filho (1992), o aumento da densidade não altera a taxa de eclosão de larva, mas, altera as mortalidades adicionais, que chegou a 87% e 100% em alguns tanques aerados e incubadoras. Neste trabalho, a densidade de estocagem de ovos, a vazão, a temperatura e o oxigênio dissolvido foram mantidos sobre controle e não influenciaram nos dados obtidos, o que evidencia a validade dos resultados.

Após a fertilização, deu-se a deposição dos ovos no sistema de incubação. Neste período foi necessário ajustar a vazão de água das incubadoras para garantir a manutenção dos ovos à meia profundidade, aumentando a oxigenação e evitando prejuízo por choque mecânico. Uma hora depois, foi realizado um reajuste, quando ocorreu a hidratação total dos ovos, de forma que o processo ocorreu de forma satisfatória.

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem a necessidade da abolição do uso de qualquer instrumento para mistura de gametas, contrariando a técnica adotada e recomendada por vários autores, inclusive Woynarovich (1986) que afirma que a fertilização artificial (método a seco) envolve intervenção do homem e apresenta

a grande vantagem de aumentar significativamente a taxa de fertilização, no entanto, recomenda, para a mistura do sêmen aos óvulos, o uso de pena de ave ou espátula para mistura de massa de bolo. Neste trabalho recomenda-se a agitação suave das vasilhas contendo os produtos sexuais que aumenta o percentual de fertilização, eclosão e sobrevivência das larvas, como observado neste trabalho utilizando-se o tambaqui, *Colossoma macropomum*, como modelo experimental.

## 5. CONCLUSÃO

O uso de instrumentos para a mistura dos produtos sexuais de peixes, reduz as taxas de fertilização dos óvulos e de eclosão de larvas, pois estes instrumentos causam danos à superfície dos ovos.

Quando na condição onde se utiliza instrumento observa-se danos na superfície dos ovos, no entanto não é possível precisar a origem dos mesmos.

Assim, para melhoria do desempenho na reprodução de peixes, os gametas devem ser misturados apenas com leve agitação do vasilhame onde os produtos estão contidos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO-LIMA, C.; GOULDING, G. So Fruitful a Fish. Ecology, Conservation, and Aquaculture of The Amazon's Tambaqui. New York, New York, USA, Columbia University Press. 1997. 185p.

AZEVEDO, P. Principais peixes de águas interiores de São Paulo, hábitos de vida. In: COMISSÃO INTERESTADUAL DA BACIA PARANÁ-URUGUAI (ed.). **POLUIÇÃO E PISCICULTURA**, São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP/Instituto de Pesca, p. 109 – 112, 1972

BARBOSA, J. M. Espécies do gênero *Colossoma* (Pisces: Characidae) Importantes para a piscicultura em regiões tropicais. In: *Síntese dos trabalhos realizados com*

espécies do gênero **Colossoma**. CEPTA/Projeto Aqüicultura/Brasil, 76-001 CIDI. Pirassununga, p. 3, 1992.

BRITSKI, H. A. Sobre o gênero *Colossoma* (Pisces, Characidae). *Ciência e Cultura*, v. 29, p. 810, 1977.

CAROLSFELD, J.; RAMOS, S. M.; ORMANEZI, R; GOMES, J. H.; BARBOSA, J. M. & HARVEY, B., Analysis of protocols for application of an LHRH analog for induce final maturation and ovulation of female "pacu" (*Piaractus mesopotamicus*) (Holmberg, 1887). *Aquaculture*, Amsterdam, n. 74, p. 49-55, 1988.

CHABALIN, E., FERRARI, V. A., GASPAR, L. A. F. B. Custo de formação de reprodutores de tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 em monocultura experimental. *Boletim técnico do CEPTA*, v. 6, p. 57-67. 1993.

CUNHA, A. G. *Dicionário histórico das palavras portuguesas de origem tupi*. Ed. Melhoramentos, São Paulo. 1989. 155p.

DINIZ, M. M. *Desenvolvimento embrionário e larval do tambaqui Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Pisces Characidae). UFRPE, Departamento de Pesca: Monografia de Graduação. 1986. 45p.

FONTENELE, O. *Métodos de hipofiseação de peixes adotados pelo DNOCS*. DNOCS, Fortaleza. 33 p. 1981

FORNIÉS, M.A.; MAÑANÓS, E.; CARRILLO, M.; ROCHA, A.; LAUREAU, S.; MYLONAS C. C.; ZOHAR Y.; ZANUY S. Spawning induction of individual European sea bass females (*Dicentrarchus labrax*) using different GnRHa-delivery systems. *Aquaculture*, v. 202, n. 3-4 , p. 221-234, 2001.

GOULDING, M, CARVALHO, M. L. Life history and management of the tambaqui, (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. *Rev. Bras. Zool.*, v. 1, p. 107-133, 1982.

HONDA, E.M.S. Peixes encontrados nos mercados de Manaus. *Acta Amazônica*, v. 2, p. 97-98, 1972.

HUET, M. *Tratado de piscicultura*, Ed. Mundi-Prensa. Madri, 1978, 728p.

GFA, *Database of IGFA angling records until 2001*. IGFA, Fort Lauderdale, disponível em <http://www.igfa.org>, acessado em 25 de março de 2003.

IHERING, R. Havemos de criar peixes com a mesma facilidade com que se criam gallinhas. *Chácaras e Quintais*, v.5, n. 3, p. 1-6, 1912.

IHERING, R. A pesca no nordeste brasileiro. *Bol. Biol.*, v. 1, n. 2, p. 65-72, 1933.

LOVSHIN, L. L. Situacion del cultivo de *Colossoma* sp em Sul América. *Rev. Latino Americana de Aqüicultura*, Lima, p. 23-32, 1980.

LOVSHIN, L.L., The colossomids. *In*: Nash C.E and Novotny A.J. (eds.) *World animal science: production of aquatic animals: fishes*. Elsevier Science, Amsterdam, p. 153-159.,1995.

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

MARINO, G.; PANINI, E.; LONGOBARDI, A.; MANDICH, A.; FINOIA, M. G.; ZOHAR, Y.; MYLONAS C. C. Induction of ovulation in captive-reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), with a sustained-release GnRHa implant. *Aquaculture*, v. 219, n. 1-4 , p. 841-858,2003.

MCT, Projetos de Pesquisa Dirigida Edital PPD 01/98, *Piscicultura extensiva de Tambaqui na floresta de várzea*.Disponível em : < [www. Mtc.gov.br](http://www.Mtc.gov.br), acesso em 25/02/03.

MENEZES, R. S. Hipofiseação de peixes do rio Mogi-Guaçu com extrato glicerinado de hipófise de peixe. *Bol. Ind. Animal*, v. 7, n. 3-4, p. 36-44, 1944.

MIKOLAJCZYK, T.; CHYB, J.; SOKOLOWSKA-MIKOLAJCZYK, M.; ENRIGHT W.J.; EPLER, P, FILIPIAK, M.; BRETON, B. Attempts to induce an LH surge and ovulation in common carp (*Cyprinus carpio* L.) by differential application of a potent GnRH analogue, azagly-nafarelin, under laboratory, commercial hatchery, and natural conditions. *Aquaculture*, v. 223, n. 1-4, p. 141-157, 2003,

MOLLE, F. e CADIER, E., *Manual do pequeno açude: construir, conservar e aproveitar pequenos açudes no nordeste brasileiro*. SUDENE, Recife. 1992, 521 p.

MORALES, J.C. *Acuicultura marina animal*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, 1986, 670 p.

MYLONAS, C.C. ; ZOHAR, Y. Endocrine regulation and artificial induction of oocyte maturation and spermiation in basses of the genus *Morone*. *Aquaculture*, v. 202, n. 3-4 , p. 205-220, 2001.

NOMURA, H. *Ictiologia e Piscicultura*. Livraria Nobel, São Paulo, 118 p.

ORTEGA, H. e VARI, R. P. Annotated checklist of the freshwater fishes of Peru. *Smithsonian Contributions to Zoology*, n. 437, p. 1-22. 1986.

PETREIRE JR, M. Yield per recruit of the tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, in the Amazonas State, Brazil. *J. Fish Biol.*, n, 22, p. 133-144, 1983.

PINHEIRO, J. L. P., SILVA, M. C. N. *Tambaqui, Colossoma macropomum, Cuvier, (1818). Ampliação do período de desova*. CODEVASF, Brasília, 1988. 29 p.

PINHEIRO, J. L. P., SILVA, M. C. N. SOARES, M. A. A. D. Q., SOUZA, N. H., WOYNAROVICH, A. *Tambaqui, produção intensiva de larvas no Baixo São Francisco* CODEVASF, Brasília, 1988. 29 p.

PRAT, F.; ZANUY, S.; CARRILLO, M. Effect of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRHa) and pimozide on plasma levels of sex steroids and ovarian development in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*. v. 198, n. 3-4, p. 325-338, 2001.

RAMOS, S. M. *Efeito de Análogos de LHRH em Combinação com Receptores Antagonistas de Dopamina na Indução à Ovulação do Matrinxã Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869), Dissertação de mestrado, Faculdade de Zootecnia e Enga. de Alimentos, Pirassununga, USP. 2000, 47p.

SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. *Aquaculture*, n. 54, p. 205 – 40, 1986.

SAINT-PAUL, U., WERDER, U. The potential of some Amazonian fishes of warm water aquaculture . In: *Anais. World Symposium on Aquaculture in Heated Effluents and Recirculation Systems*. Heemann Verlagsgesellschaft, n. 16-17, p. 275-287, 1981.

SEN, U.; MUKHERJEE, D.; BHATTACHARYYA, S.P.; MUKHERJEE, D. Seasonal changes in plasma steroid levels in Indian major carp *Labeo rohita*: influence of homologous pituitary extract on steroid production and development of oocyte maturational competence. *General and Comparative Endocrinology*, v. 128, n. 2, p. 123-134, 2002.

SILVA, A.B.; CARNEIRO SOBRINHO, A.; MELO, F.R. Contribuição ao estudo sobre o uso de hipófise do curimatã-comum, *Prochilodus cearensis* Steindachner, na reprodução artificial do tambaqui *Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818. *Anais do I Simp. Bras. Aquic.*, Rio de Janeiro, p.301-306, 1978.

SZABÓ T.; MEDGYASSZAY, C; HORVÁTH, L. Ovulation induction in nase (*Chondrostoma nasus*, Cyprinidae) using pituitary extract or GnRH analogue combined with domperidone *Aquaculture*, v. 203, n. 3-4, p. 389-395, 2002.

TAPHORN, D. C. The Characiform fishes of the Apure river drainage, Venezuela. *Biollania*, v. 4, p. 1-537, 1992

VASCONCELOS, A. R. *Propagação artificial do tambaqui Colossoma macropomum*, Cuvier,1818. na Estação de Piscicultura Dr. "Erasmó José de Almeida" – Neópolis. Monografia de Engenharia de Pesca- UFRPE. Recife,. 28 p. 1985.

WOOTON, R.J. Introduction tactics and strategies in fish reproduction. In: POTTS, G.W.; WOOTON, R.J. (ed.) *Fish reproduction: strategies and tactics*. Academic Press, 1984. 68p.

WOYNAROVICH. E. *Tambaqui e pirapitinga: propagação artificial e criação de alevinos*. Brasília: CODEVASF. 1986. 68p.

WOYNAROVICH. E. e HORVATH L. A propagação artificial de peixes de águas tropicais. CODEVASF, Brasília. 220 p. 1983

ZANIBONI FILHO, E.; BARBOSA N. D. C. Número de amostra para determinação da taxa de fertilização durante a incubação dos ovos de peixes reofílicos. *Res. 1ª reunião anual do Inst. de Pesca*, São Paulo, p. 65, 1992.

ZANIBONI FILHO, E., *Incubação, larvicultura e alevinagem do tambaqui (**Colossoma macropomum** Cuvier, 1818)*. Tese de Doutorado. UFSCar. 1992. 202p.