

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

CAROLINY OLIVEIRA MELO

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
REPRODUÇÃO INDUZIDA DE ESPÉCIES DE PEIXES NATIVOS**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, apresentado como exigência parcial à obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientador: Profa. Dra. Fernanda Gomes de Paula

**Goiânia
2013**

Primeiramente a Deus, que é razão de todas as coisas. A minha mãe (Wânia Alves) e meu pai (Mario José Melo), que estiveram me apoiando durante todos esses anos e foram quem me proporcionou a possibilidade de estar aqui. Ao meu namorado Virgílio Macêdo, que esteve do meu lado por todos esses anos, sempre me dando forças. E as minhas amigas Deborah Pereira, Karoliny Castro, Karla Andrade e Marília Pires que fizeram dos meus dias mais felizes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Universidade Federal de Goiás que me proporcionou a estrutura necessária ao meu aprendizado. Agradeço também a professora Fernanda que me acolheu na minha escolha pela área de atuação piscicultura, e sempre fez o possível para atender as minhas necessidades.

“Você escolhe, recolhe, elege, atrai, busca, expulsa, modifica tudo aquilo que te rodeia a existência. Teus pensamentos e vontades são a chave de teus atos e atitudes. São as fontes de atração e repulsão na jornada da tua vivência. Não reclame nem se faça de vítima. Antes de tudo, analisa e observa. A mudança está em tuas mãos. Reprograma tua meta, busca o bem e você viverá melhor. Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.”

(Chico Xavier)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 ESPÉCIES NATIVAS IDEAIS PARA CULTIVO.....	11
3 REPRODUÇÃO EM AMBIENTE NATURAL.....	12
4 FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO	13
4.1 Fisiologia da Fêmea	13
4.2 Fisiologia do macho.....	19
5 PREPARAÇÃO DOS REPRODUTORES	21
5.1 Densidade de estocagem e qualidade da água.....	21
5.2 Alimentação	22
5.4 Identificações do plantel	24
6 SELEÇÃO E TRANSPORTE DE REPRODUTORES.....	25
7 INDUÇÃO	27
7.1 Tipos de hormônios	27
7.2 Métodos de administração	29
7.3 Doses recomendadas	30
7.4 Conceito hora-grau	31
8 DESOVA SEMI NATURAL E POR EXTRUSÃO.....	33
9 CRIOPRESERVAÇÃO DE GAMETAS.....	34
10 FECUNDAÇÃO	36
11 HIBRIDIZAÇÃO.....	37
12 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
13 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
14 ANEXOS.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Desenho esquemático mostrando as camadas que revestem o oócito	14
Figura 2	Número de oócitos em relação ao peso corporal em fêmeas de curimbatá (<i>P.affinis</i>)	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dosagens de hormônio recomendada de acordo com a espécie	31
Tabela 2	Valores da hora-grau e tempo aproximado para ocorrência da ovulação após indução hormonal de algumas espécies de peixes	32

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Taxonomia de peixes nativos	11
Quadro 2	Idade a maturidade sexual de acordo com a espécie	13

1 INTRODUÇÃO

O primórdio da Aquicultura brasileira ocorreu na década de 30 por volta dos anos 1928 e 1929 quando o pesquisador Rodolpho Von Ihering observou as espécies nativas durante piracema. Naquele tempo, vendo a concentração de peixes nos nossos rios começaram a pensar na domesticação de algumas espécies mais nobres como a piapara (*Leporinus sp.*), o curimatá (*Prochilodus lineatus*) e o dourado (*Salminus maxillosus*). Em 1934, Ihering e sua equipe conseguiram induzir a reprodução no bagre (*Rhamdia sp.*) e no cascudo (*Loricaria sp.*), ambos coletados no rio Tietê. No ano seguinte, também, conseguiram induzir a reprodução do curimatã-pacu e do piau verdadeiro (CASTAGNOLLI, 2004).

A partir daí, a aquicultura brasileira foi se desenvolvendo gradativamente e, hoje o Brasil, produz aproximadamente 1,25 milhões de toneladas de pescado, sendo 38% oriundo do cultivo (BRASIL, 2010). De 2008 para 2010 a produção nacional de pescado proveniente da aquicultura passou de 365.367 t para 479.398 t, sendo 394.340 t advinda da aquicultura continental, ou seja, produzida em água doce. Ainda falando em termos de produção aquícola continental, verifica-se que a região sul é maior produtor seguido do nordeste, sudeste, centro-oeste e norte, respectivamente. Nessas regiões algumas das espécies nativas mais produzidas são o Tambaqui (*Colossoma macropomum*), o híbrido Tambacu (*C. macropomum x Piaractus mesopotamicus*), Pacu (*P. mesopotamicus*), Piau (*Leporinus sp.*) e Curimatã (*Prochilodus sp.*), respectivamente, além de outras menos expressivas como o híbrido Tambatinga (*P. brachypomus*), Matrinxã (*Brycon cephalus*) e o Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), variando de região pra região. Contudo as espécies mais produzidas no Brasil, ainda são exóticas, Tilápia (*Oreochromis niloticus*) e Carpa (*Cyprinus carpio*) (BRASIL, 2010).

Visto esse cenário, vemos que nada disso seria possível sem o advento de tecnologias como a reprodução induzida que possibilitou a criação de espécies nativas, que em condições de cativeiro não são capazes de se reproduzir naturalmente. Além disso, proporcionou a obtenção de eficiência reprodutiva com um número satisfatório de ovos e acima de tudo com qualidade. Mas ainda muito tem que ser feito relativo a pesquisas na área de reprodução, visto que temos espécies nativas com um elevado potencial produtivo. Porém, ainda não se domina

as técnicas de propagação artificial dessas, o que inviabiliza a criação em escala comercial.

Outra grande vantagem da propagação artificial de peixes é a possibilidade de um maior controle do manejo reprodutivo, de uma escolha consciente do reprodutor, onde se leva em conta características sanitárias e genéticas.

Uma possibilidade com a reprodução induzida pensando em melhoramento genético é a hibridização, técnica às vezes questionada quando se pensa em segurança ambiental, porém vem sendo muito usada para melhora de desempenho produtivo. Outra técnica seria o próprio melhoramento da espécie, porém esta ainda é de pouco conhecimento técnico científico visto que agora que as pesquisas relacionadas ao tema iniciaram, e esse é um processo de difícil mensuração, portanto, demorado.

Observando todo esse cenário por meio do presente trabalho pretende-se fazer um levantamento de fatores relacionados com a reprodução desde os cuidados com o reprodutor até a indução hormonal. Além disso, também será abordado aspectos fisiológicos e comportamentais, que são de grande importância para se compreender todo o universo da reprodução. O uso de novas tecnologias como hibridização e criopreservação de gametas também será discutido.

Proporcionando ao fim o entendimento do que é uma reprodução bem feita, o que sendo assim é de grande valia para o advento da piscicultura moderna.

2 ESPÉCIES NATIVAS IDEAIS PARA CULTIVO

De acordo com Padua (2001), espécies nativas são aquelas de origem e ocorrência natural nas águas brasileiras. Dentre elas nos temos as que são consideradas ideais para cultivo, e que integram as seguintes famílias, descritas no (Quadro 1).

Quadro 1 – Taxonomia de peixes nativos

Família	Subfamília	Gênero	Espécie
Characidae	Myleinae	Colossoma Piaractus	Tambaqui ¹ , Pacu ² e Pirapitinga ³
	Bryconinae	Brycon	Piracanjuba ⁴ , Matrinxã ⁵ e Piraputanga ⁶
Prochilodontidae		Prochilodus	Curimatã ⁷ e outros
Anostomidae		Leporinus	Piapara ⁸ , Piauçu ⁹ , Piava ¹⁰ e Piau ¹¹
Osteoglossidae		Arapaima Osteoglossum	Pirarucu ¹² e Aruanã ¹³
Pimelodidae		Pseudoplatystoma	Pintado ¹⁴ e Cachara ¹⁵
Salmininae		Salminus	Dourado ¹⁶
Cichlidae		Cichla	Tucunaré ¹⁷

¹*Colossoma macropomum*; ²*Piaractus mesopotamicus*; ³*P. brachypomus*; ⁴*Brycon orbignyanus*; ⁵*Brycon amazonicus*; ⁶*Brycon microlepis*; ⁷*Prochilodus sp.*; ⁸*Leporinus elongatus*; ⁹*Leporinus macrocephalus*; ¹⁰*Leporinus obtusidens*; ¹¹*Leporinus friderici*; ¹²*Arapaima gigas*; ¹³*Osteoglossum bicirrhosu*; ¹⁴*Pseudoplatystoma corruscans*; ¹⁵*P. fasciatum*; ¹⁶*Salminus maxilosu*; ¹⁷*Cichla ocellaris*.
Fonte: PADUA (2001)

Com isso, percebe-se que as principais espécies nativas produzidas no Brasil são as da família Characidae, sendo as principais da subfamília Myleinae (peixes redondos) e em menor proporção a família Anostomidae do gênero *Leporinus sp.*, a família Prochilodontidae em especial a Curimatã, a subfamília Bryconinae principalmente a Matrinxã e a família Pimelodidae com o Pintado.

O Tambaqui ocorre nas bacias do rio Amazonas e do rio Orinoco, já o Pacu pode ser encontrado nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai, ocorrendo também nas planícies alagadas do Centro-oeste e no Pantanal. O Piau, por sua vez, ocorre em toda bacia do Prata, Amazônica e no Nordeste brasileiro. O Pintado pode ser encontrado nas bacias do rio Paraná e São Francisco e a Curimatã ocorre nas bacias do Solimões-Amazonas, Tocantins, São Francisco, Paraná-Paraguai e Uruguai. Já a Matrinxã é restrita a bacia Amazônica (BALDISSEROTTO e GOMES, 2010).

Levando em conta que essas são as principais espécies nativas de interesse zootécnico, esse trabalho irá abordar de forma específica à reprodução relacionada a elas.

3 REPRODUÇÃO EM AMBIENTE NATURAL

De acordo com IAP [entre 2008 e 2013] todas essas espécies de interesse zootécnico mencionadas anteriormente, em ambiente natural realizam a piracema. A piracema consiste na migração dos peixes até o montante dos rios para realizarem a desova, e assim, se reproduzirem.

Segundo Padua (2001), o período de reprodução pode variar de acordo com a espécie, mas na sua maioria ocorre de novembro a janeiro, ou seja, sua migração coincide com o início do período chuvoso quando os peixes movem pelo rio, para lagos e rios menores adjacentes. Com exceção do Tambaqui e Pacu, que apresentam migração durante a seca e desova no início da estação chuvosa (BALDISSEROTTO e GOMES, 2010).

Essa migração é muito importante para estimular a maturação gônadal, através de estímulos ambientais e sociais que irão desencadear estímulos hormonais resultando quase sempre em uma desova (BALDISSEROTTO e GOMES, 2010).

Outro fator importante que ocorre durante a migração é o fato dos peixes queimarem a reserva energética devido ao grande esforço físico, contribuindo para a desova ao fim da migração (ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004).

“Se as alterações no ambiente não forem suficientemente fortes para provocar o desenvolvimento dos ovos, o animal permanecerá em uma fase de dormência até que algum dos fatores ambientais se torne crítico e ocorra a reabsorção dos ovos.” (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989)

Sabe-se que os peixes de água doce desovam em três tipos diferentes de ambientes: águas paradas, águas correntes e terrenos inundados. O local da desova em água parada vai variar de acordo com a espécie, dependendo de características como, se o ovo é aderente ou não, se a espécie tem característica de cuidados parental ou construção de ninho, dentre outros.

Segundo Woynarovich e Horváth (1989), a desova em águas correntes proporciona ambiente adequado aos ovos, que são geralmente não aderentes

(flutuantes, semiflutuantes ou semidensos). Muitas vezes também os ovos são levados pela correnteza para margens ou áreas inundadas, ricas em organismos necessários ao desenvolvimento da pós-larva.

Ainda, segundo Woynarovich e Horváth (1989), a desova em áreas inundadas, é o local ideal, os peixes que desovam nessas áreas geralmente possuem ovos aderentes e suas larvas são do tipo suspenso. O local onde os ovos são depositados deve oferecer condições ideais no que diz respeito, por exemplo, ao oxigênio, temperatura e alimentos.

A idade da primeira maturação varia de acordo com a espécie, peso em relação ao peso adulto, clima e outros fatores, em média observa-se os seguintes dados para maturidade sexual, demonstrado no (Quadro 2).

Quadro 2 – Idade a maturidade sexual de acordo com a espécie

Maturidade sexual (anos)			
Espécie	Fêmea	Macho	Fonte
Tambaqui ¹	4-5	3-4	Woynarovich e Horváth (1989)
Pacu ²	4-5	3-4	Woynarovich e Horváth (1989)
Piau ³	2	1	Tataje e Filho (2010)
Matrinã ⁴	3	2	Woynarovich e Horváth (1989)
Curimatã ⁵	2	2	Fonseca et al. (2010)
Pintado ⁶	2	3	Campos (2010)

¹ *Colossoma macropomum*; ² *Piaractus mesopotamicus*; ³ *Leporinus sp.*; ⁴ *Brycon sp.*; ⁵ *Prochilodus sp.*; ⁶ *Pseudoplatystoma sp.*

4 FISIOLÓGIA DA REPRODUÇÃO

4.1 Fisiologia da Fêmea

4.1.1 Ovários

Os ovários são constituídos de células germinativas também chamadas de ovogonias e por ovócitos. O ovócito se desenvolve a partir da diferenciação das células germinativas, e é composto por uma camada interna chamada de córion ou envelope vitelínico, que consiste na camada mais interna do ovócito, o córion é composto por duas camadas uma mais fina e outra mais espessa. É no interior do córion que é armazenado o vitelo (BALDISSEROTTO, 2009).

Também de acordo com Baldisserotto (2009), o ovócito passa a ser denominado como folículo ovariano a partir do momento em que se forma a camada folicular. Ela é composta por uma camada de células granulosas (porção mais interna da camada folicular) e uma camada externa de células tecais, elas são separadas por uma membrana basal, (Figura 1).

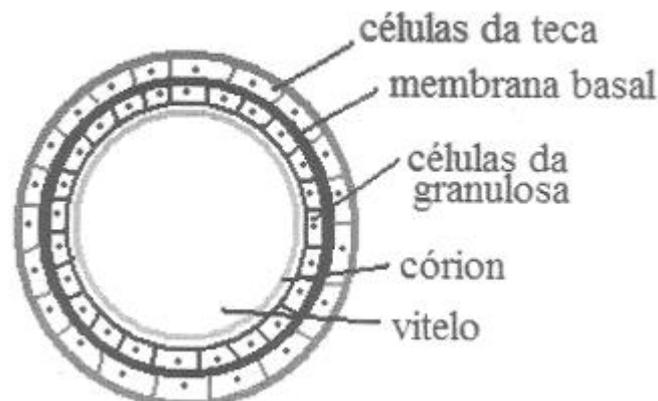


Figura 1 – Desenho esquemático mostrando as camadas que revestem o oócito
Fonte: BALDISSEROTTO (2009)

4.1.2 Tipos de desenvolvimento oocitário e desova

Segundo Zabioni-Filho e Nuñez (2004) há três formas de desenvolvimento de folículo, sincrônico, sincrônico em grupo e assincrônico.

O sincrônico é quando todos os oócitos se desenvolvem todos ao mesmo tempo e o peixe apresenta apenas uma desova, durante toda a vida.

O desenvolvimento sincrônico em grupo é o que as espécies nativas realizam. Nele em determinado instante, o ovário apresenta ao menos duas populações de folículos, sendo uma não vitelogênica, ou seja, uma população será eliminada e outra permanecerá para as desovas seguintes, ou há a possibilidade de que ocorra varias desovas durante o mesmo período reprodutivo. Nesse caso as células germinativas estão presentes no ovário ao longo da vida do peixe (ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004).

O assincrônico, por definição de acordo com Baldisserotto (2009) é quando há oócitos em todos os estágios de desenvolvimento.

Com base no tipo de desenvolvimento oocitário o peixe apresenta desova parcial ou total. No caso da desova parcial, de acordo com Baldisserotto (2009) essa ocorre quando animal apresenta desenvolvimento oocitário assincrônico, e consiste na liberação de apenas parte dos oócitos por vez.

No caso das espécies nativas, todas apresentam desova total, sendo assim todos os oócitos são liberados de uma só vez, isso ocorre quando o peixe apresenta desenvolvimento oocitário sincrônico em grupo (ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2009).

4.1.3 Regulação hormonal

Como já dito antes, os peixes nativos em ambiente natural, necessitam de um conjunto de fatores que irão estimular a migração e uma posterior ovulação. Em condições de cativeiro esses peixes não conseguem completar a maturação gonadal e conseqüentemente não desovam. Isso se deve ao fato de em cativeiro, não ser possível a ele experimentar todos os estímulos necessários que resultarão em liberação de hormônios e maturação gonadal (PADUA, 2001).

Em ambiente natural as mudanças hormonais necessárias a maturação gonadal têm início com as primeiras chuvas, ou no caso do Tambaqui e Pacu, com o período de vazante (BALDISSEROTTO e GOMES, 2010).

Conforme o período chuvoso vai avançando, ocorre um aumento do nível da água, o que acaba por desencadear mudanças físico-químicas (pH, oxigênio). Isso aliado a temperaturas mais elevadas e a presença do macho (ferormônios), vai acabar por estimular a glândula pineal e outros órgãos sensoriais do peixe. Esse estímulo chega através de vias nervosas ao Hipotálamo, se houver estímulo suficiente, a dopamina (inibidor de hormônio liberador de gonadotropina, ou inibidor da própria gonadotropina) é inativada, e o hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) é liberado (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989; ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004)

“Sob condições de estresse prolongado, o hipotálamo estimula a glândula inter-renal a produzir entre outros a dopamina, o que bloqueia o processo de maturação dos gametas.” (KUBITZA, 2004, p.8)

Segundo Baldisserotto (2009) com base em condições normais o GnRH vai atuar na Hipófise estimulando essa a liberar hormônio gonadotrópico (GnH), que tem função de estimular a maturação gonadal e a liberação de hormônios esteroides.

O GnH vai ser transportado via sanguínea até os ovários, atuando mais especificamente nos folículos ovarianos, que por sua vez vão produzir os hormônios esteroides (ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004).

“Quando os hormônios gonadais (esteroides) aumentam seu nível no plasma, exercem um efeito inibitório sobre a liberação das gonadotropinas, de modo

que há sempre uma oscilação. Aparentemente este efeito inibitório dos esteróides sobre as gonadotropinas pode dar-se em razão do efeito estimulatório dos esteróides sobre a liberação de dopamina ou através de uma inibição de GnRH.” (BALDISSEROTTO, 2009, p.181)

Os hormônios esteróides apresentam varias funções, primeiramente estimulam a diferenciação gonadal, que independe de estímulos externos. Depois, decorrente de estímulos externos, que por sua vez desencadeiam toda a cascata hormonal já mencionada, os hormônios esteróides vão estimular o acumulo de vitelo (vitelogenese) e uma posterior maturação final, ovulação e desova (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989; ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004).

As células do folículo ovariano produzem principalmente $17\beta\text{OH-P}$, testosterona, $17\alpha20\beta\text{-P}$, 17β -estradiol e também IGF-I e IGF-II. Enquanto a hipófise produz GtH I (FSH) e GtH II (LH) que são hormônios gonadotrópicos e atuam mais ativamente no controle hormonal da reprodução (BALDISSEROTTO, 2009).

A produção de hormônios esteróides de acordo com Baldisserotto (2009) se inicia a partir do colesterol, que nas células teca sofre ação de enzimas e origina $17\alpha\text{OH-P}$, ele por sua vez pode ser convertido em testosterona ou se difundir para as células da granulosa onde através da ação da enzima $20\beta\text{HSD}$ é convertido em $17\alpha20\beta\text{-P}$ (progesterona). A testosterona também pode se difundir para as células da granulosa e sofrer ação da enzima aromatase sendo convertido então a 17β -estradiol.

O GtH I no início do crescimento oocitário estimula a ação da aromatase, aumentando assim a produção de 17β -estradiol. Enquanto o GtH II no final da maturação vai inibir atividade da aromatase e aumentar atividade de $20\beta\text{HSD}$, aumentando assim $17\alpha20\beta\text{-P}$. Isso se deve ao fato do 17β -estradiol ser necessário para estimular ações relacionadas ao início do crescimento ovocitário, enquanto o $17\alpha20\beta\text{-P}$ é necessário pra estimular ações relacionadas a maturação final, ações essas que serão descritas mais a frente (BALDISSEROTTO, 2009).

“Em peixes imaturos ou em regressão, a injeção de esteróides gonadais estimula a liberação do GnRH e das GtH I e II, o que leva a um aumento do tamanho das gônadas e da maturação gonadal. Já em peixes maduros, a injeção de esteróides inibe a liberação do GnRH e das GtH I e II. Nos adultos, os esteróides também estimulam a liberação das prostaglandinas, as quais estimulam a ovulação.” (BALDISSEROTTO, 2009, p.185)

A testosterona se apresenta em níveis maiores no final da vitelogênese, terminada a vitelogênese aumenta o nível de progesterona que por sua vez vai estimular a ovulação (KUBITZA, 2004; BALDISSEROTTO, 2009).

4.1.4 Crescimento de oócito

Até atingir a fase de maturação o óvulo passa por diversas modificações, sua origem, como já dito, advém de células ovocitárias primordiais também chamadas de ovogonias, que estão fixadas na parede do ovário, elas são células muito pequenas, pouco maiores que outras células (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989).

Segundo Woynarovich e Horváth (1989), essas células se proliferam por divisão mitótica, e se diferencia em ovócito, ele por sua vez entra em divisão meiótica, esta é dividida em duas fases, a de crescimento primário que ocorre durante todo o ano e por toda a vida do peixe e independe de estímulos externos. Nessa fase o ovócito aumenta de tamanho e o folículo é formado, o folículo tem função de nutrir e proteger e regular através de hormônios o desenvolvimento do ovócito.

Para que se inicie a fase dois, a de crescimento secundário, os estímulos anteriormente mencionados têm que ter sido percebidos e a cascata hormonal desencadeada. Também conhecida por vitelogênese, é na fase dois que ocorre a formação da vesícula do vitelo, também chamada de córion. O córion é composto por proteínas chamadas coriogeninas, ele fornece proteção mecânica e química contra microorganismos. Segundo Baldisserotto (2009), baixos níveis de 17β -estradiol são suficientes para estimular produção de coriogeninas pelo fígado levando a formação do córion (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989; BALDISSEROTTO, 2009).

De acordo com Woynarovich e Horváth (1989), ainda na fase dois, também conhecida como vitelogênese, ocorre a produção e acúmulo de vitelo, além de crescimento do ovócito. O vitelo, que é um material nutriente composto por lipídios e proteínas é produzido pelo fígado, transportado para o ovário e acumulado no ovócito.

A GtH I que estimula crescimento oocitário através da estimulação da produção de 17β -estradiol, que por sua vez também estimula produção hepática de vitelogenina, que é uma proteína que transporta aminoácidos, lipídios, fosfatos, Ca^{2+}

e carboidratos do fígado para o oócito. AGtH I por si só também estimula a entrada de vitelogenina no oócito (BALDISSEROTTO, 2009).

Quando o acúmulo de vitelo termina o óvulo está materialmente pronto e então entra na fase de dormência. Em condições naturais a fase de dormência é importante para que se estabeleça uma sintonia entre a maturação ovariana final e ovulação, com as adequadas condições ambientais para sobrevivência da prole (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989; BALDISSEROTTO, 2009).

De acordo com Zabioni-Filho e Nuñez (2004) em condições de cativeiro, entende-se por essa, a fase até qual o animal desenvolve sua maturação, permanecendo na fase de dormência até que seja induzido hormonalmente ou até que ocorra atresia folicular que consiste na regressão do ovário ao estado de crescimento primário. Esse período de dormência varia de acordo com a espécie podendo se estender por semanas e até meses.

Após essa fase de dormência, têm-se a fase de maturação, ovulação e desova. Em ambiente natural o peixe através de estímulos externos (temperatura, índice pluviométrico, estresse alimentar, esforço da piracema e diversos outros fatores), desencadeia novamente toda aquela cascata de hormônios que vão acabar por estimular a maturação final desse ovócito. Lembrando que sem interferência, em cativeiro isso não é possível (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989; ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004; BALDISSEROTTO, 2009).

A maturação final de acordo com Zabioni-Filho e Nuñez (2004) consiste na migração do núcleo para periferia, e desintegração deste, seguido de uma hidratação, o que acaba promovendo um aumento de volume do ovócito e rompimento do envoltório folicular. Tendo o que chamamos de ovulação.

Segundo Baldisserotto (2009), a GtH II é importante para maturação do oócito, atuando de forma a deixar o oócito sensível a ação do $17\alpha 20\beta$ -P, que por sua vez induz a migração e desintegração da vesícula germinal e posteriormente a ovulação.

“Após o rompimento da ligação com as células foliculares, os ovócitos deixam também de manter uma ligação com a corrente sanguínea, que lhes proporcionava suprimento alimentar, e trocas gasosas. As reservas alimentares do ovócito garantem sua sobrevivência até o início da alimentação exógena, que ocorre dias depois da ovulação, porém, as trocas gasosas que passam a ocorrer por

difusão direta definem um tempo curto para eliminação de ovócitos viáveis.” (ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004, p.51)

“Por exemplo, no curimatá (*P. marggravii*), a taxa de fertilização é inferior a 30 e 10% 90 a 120 min, respectivamente, após a ovulação.” (BALDISSEROTTO, 2009, p. 188). Ou seja, conforme vai passando o tempo os ovócitos vão se tornando inviáveis.

De acordo com Baldisserotto (2009) o número de oócitos varia de acordo com o peso corporal da fêmea, fêmeas maiores, maior número de oócitos veja (Figura 2).

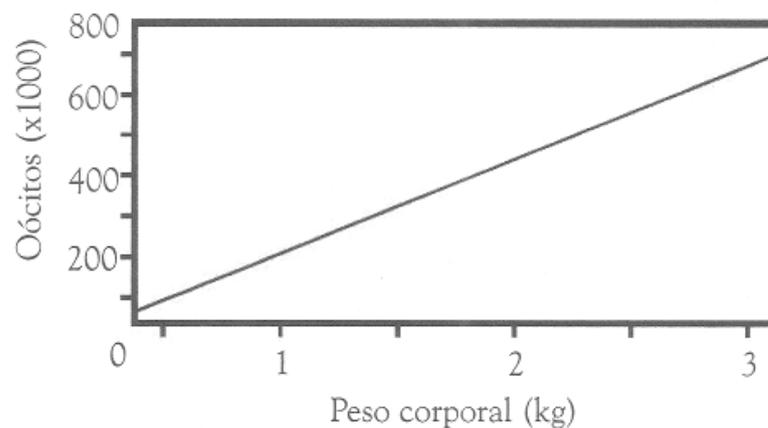


Figura 2 – Número de oócitos em relação ao peso corporal em fêmeas de curimatá (*P. affinis*)
Fonte: SATO et al. (1996) citado por BALDISSEROTTO (2009)

Após a ovulação a fêmea em ambiente natural desova na presença do macho, ou no caso de indução em cativeiro essa desova é feita através de extrusão manual (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989).

“Em peixes de desova total, o crescimento dos oócitos pode ser irregular no início da vitelogênese, isto é, há uma diferenciação muito grande no tamanho dos oócitos dentro do ovário. Contudo ao final da maturação eles apresentam o mesmo volume” (BALDISSEROTTO, 2009, p.188).

4.2 Fisiologia do macho

4.2.1 Testículos

Os testículos são órgãos pares, prolongados e individualizados, unindo-se apenas na extremidade caudal para formar o ducto espermático, que é comum aos dois. Esse por sua vez desemboca na papila urogenital, que é a porção que se comunica com o meio externo (NUNES, 2011).

De acordo com Ribeiro (2002) e Baldisserotto (2009) os testículos são revestidos por uma túnica albugínea, constituída principalmente de tecido conjuntivo. Essa túnica emite ramificações para o interior do órgão que delimitam os lóbulos. Os lóbulos são preenchidos por túbulos seminíferos e cistos. No interior de cada cisto se encontram as células da linhagem espermatogênica, todas na mesma fase de desenvolvimento. Os cistos são revestidos por prolongamentos de células de Sertoli, cuja função é nutrir as células germinativas.

No tecido intersticial do testículo também se encontram as células de Leydig, que tem por função a produção de esteroides que estimulam a gametogênese e o desenvolvimento de caracteres secundários (BALDISSEROTTO, 2009).

Ainda segundo Baldisserotto (2009), os espermatozoides após formados caem no lúmen dos túbulos seminíferos e dali seguem para o ductos espermático e posteriormente papila urogenital, por onde terão contato com o ambiente.

4.2.2 Espermatogênese

A espermatogênese em peixes está dividida em três fases, a espermatogonial, onde as espermatogônias sofrem rápidas e sucessivas divisões mitóticas, a espermatocitária, onde o material genético é duplicado, recombinado e segregado e a espermiogênica, onde as espermatídes sofrem drásticas mudanças morfo funcionais, como a condensação nuclear e a formação do flagelo, dando origem aos espermatozoides (SCHULZ e MIURA, 2002; NÓBREGA et al., 2009 citados por GUTIÉRREZ, 2011).

Na fase espermatogonial, as espermatogônias primárias sofrem divisões mitóticas, originando dentro do cisto um grupo de células denominado espermatogônias secundárias, elas por sua vez continuam a sofrer divisões mitóticas e acabam por se diferenciar em espermatócitos primários (SCHULZ e MIURA, 2002; LACERDA et al., 2006 citados por GUTIÉRREZ, 2011).

De acordo com Kavamoto et al. (1998) na fase espermatocitária os espermatócitos primários passam por diversas divisões meióticas, com finalidade de gerar diversidade genética, originando os espermatócitos secundários, que por sua vez se dividem originando as espermatídes.

Durante a última fase, ocorre a espermiogênese, que ocorre dentro de cada cisto e é a transformação de espermatídes em espermatozoides (KAVAMOTO et al., 1998).

“No final da espermiogênese, quando as pontes intracelulares rompem-se e os espermatozoides são visualizados, os complexos juncionais entre as células de Sertoli sofrem uma remodelação dinâmica, que termina com a abertura dos cistos e liberação dos espermatozoides para o lúmen tubular” (BATLOUNI *et al.*, 2005 citado por GUTIÉRREZ, 2011, p. 27).

De acordo com Baldisserotto (2009) os espermatozoides dos peixes são geralmente inativos dentro dos testículos. No caso de peixes de água doce sua ativação ocorre quando a osmolaridade da água é menor que a do plasma, considerando que o esperma é liberado na água com a finalidade de fecundar os óvulos.

5 PREPARAÇÃO DOS REPRODUTORES

5.1 Densidade de estocagem e qualidade da água

O ambiente no qual os reprodutores são criados afetam de forma significativa o seu desempenho na estação reprodutiva. Com base nisto é de extrema importância que se mantenha parâmetros como qualidade de água, densidade de estocagem e quantidade de alimento conforme recomendações.

De acordo com Kubitzka (2004), altas densidades de estocagem podem prejudicar o desenvolvimento gonadal dos peixes, sendo recomendado adotar-se densidade de 2.500 Kg/ha.

Entretanto aspectos comportamentais dos peixes devem ser observados, por exemplo, peixes que em natureza formam cardumes durante a maturação gonadal, quando submetidos a densidades reduzidas podem apresentar uma desova aquém do seu potencial (ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004).

“A manutenção de reprodutores de *Piaractus mesopotamicus* (Pacu) pesando entre 2 e 3 Kg e estocados em duas densidades, 1 ou 2 peixes/m² ao longo de todo período de maturação gonadal, posteriormente submetidos aos protocolos convencionais de indução hormonal para indução a desova, demonstrou que os peixes estocados em maior densidade produziram maior quantidade de ovos, ou seja, apresentaram maior fecundidade”. (ROMAGOSA *et al.*, 1998 citado por ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004)

Quanto à manutenção dos parâmetros químicos da água, estes devem sempre estar em níveis adequados, de forma que não ofereçam situação de estresse ao animal. Os níveis mais adequados variam de acordo com a espécie, porém para espécies tropicais em geral normalmente se observa os seguintes valores.

A faixa ótima de temperatura pode variar de 25 a 28°C. Quanto ao pH as espécies nativas toleram uma faixa entre 6,5 e 9,0. Quanto a concentração de oxigênio, normalmente toleram concentrações mais baixas, por um curto período de tempo, podendo variar entre 1,0 e 5,0 mg de O₂ sendo o ideal acima de 3,0 mg (BALDISSEROTTO e GOMES, 2010).

Ainda segundo Baldisserotto e Gomes (2010) quanto a concentração de amônia tóxica (NH₃), observa-se no caso do tambaqui tolerância de até 0,46 mg/L. Enquanto para o Pacu e para a Matrinxã tolerância de 0,025 mg/L de NH₃.

5.2 Alimentação

Uma alimentação adequada, com uma ração de qualidade e fornecida em quantidades adequadas, afeta diretamente a eficiência reprodutiva dos peixes. Além disso de acordo com Romagosa et al. (2012) o sucesso reprodutivo depende também da sincronia entre o período de oferta de alimento (antes e durante período reprodutivo e o momento de liberação de gametas).

De acordo com Kubitzka (2004), a preparação de novos óvulos se inicia logo após a reprodução, portanto, desde já a preocupação com uma nutrição adequada. O período de acúmulo de vitelo consiste em um dos pontos mais críticos para a nutrição, merecendo atenção dobrada. Já durante o inverno, período que normalmente os peixes em ambiente natural estariam realizando a desova, os peixes devem ser alimentados a uma taxa de 0,6 a 1% do peso vivo e dia sim, dia não.

“Nos meses próximos à desova é comum observar uma redução no consumo de alimento por parte dos reprodutores.” (KUBITZA, 2004, p. 5). Porém de acordo com Zabioni-Filho e Nuñez (2004) algumas espécies, mesmo aquelas que em ambiente natural apresentam redução do consumo, em cativeiro mantêm uma intensa ingestão de alimento.

Porém não é aconselhável que se alimente esse reprodutor mais de forma *ad libitum*. “A análise do desenvolvimento ovariano de reprodutores de *Piaractus*

brachypomus alimentados nos cinco meses que antecedem o período reprodutivo com dietas contendo valores crescentes de proteína bruta e energia digestível (entre 25,4% PB e 2605 Kcal até 38,2% de PB e 3828 Kcal) revelou que a aparência histomorfológica dos ovários não foi afetada pelas distintas dietas, porém as fêmeas alimentadas com dieta contendo os mais baixos valores de energia e proteína apresentaram óvulos vitelogênicos maiores e num período de tempo relativamente menor.” (VÁSQUES-TORRES, 1994 citado por ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004, p.53)

De um modo geral as rações de reprodutores apresentam níveis mais elevados de proteína do que o normal para a espécie naquele estágio de desenvolvimento. E quanto ao arraçoamento usa-se em torno de 1% do peso vivo por dia, com exceção do período de inverno, como já mencionado (KUBITZA, 2004).

Peixes com hábito alimentar carnívoro exigem dietas mais ricas em proteína, outra característica é que peixes carnívoros não conseguem aproveitar de maneira adequada fonte de proteína de origem vegetal (ROMAGOSA et al., 2012).

Para peixes onívoros, de acordo com Kubitza (2004) usa-se em torno de 32% de proteína, enquanto peixes carnívoros em torno de 40 a 42%.

Outro ponto importante a ser observado de acordo com Romagosa et al. (2012) e Zabioni-Filho e Nuñer (2004) é quanto aos lipídios, dietas com excesso de energia podem levar a deposição de gordura na carcaça e na cavidade celomática, o que pode prejudicar o desempenho reprodutivo.

“Os ácidos graxos altamente insaturados desempenham importante papel na reprodução, pois regulam a produção de eicosanoides, particularmente a prostaglandina, que está envolvida em diversos processos reprodutivos, incluindo a produção de hormônios esteroides, o desenvolvimento gonadal e ovulação/espermiação.” (IZQUIERDO et al., 2001 citado por ROMAGOSA et al., 2012, p.171)

De acordo com Romagosa et al. (2012) a vitamina E (α tocoferol) é essencial para que se consiga valores satisfatórios de taxas de fecundidade e sobrevivência da prole. Ela não pode ser sintetizada pelos peixes, por isso é essencial sua inclusão na dieta de peixes, em aproximadamente 50 mg/kg^{-1} de peixe.

5.3 Estresse

Sob condições de estresse o hipotálamo estimula a liberação de dopamina, o que acaba por interromper a maturação gonadal, podendo levar até uma regressão (KUBITZA, 2004).

Com base nesse conhecimento, é recomendado que se faça uma domesticação do peixe, através de manejos frequentes, de modo que cada vez menos esse animal apresente reações adversas a essas manipulações (ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004).

“Algumas espécies de peixes brasileiros são dóceis e respondem muito bem ao manejo necessário para o tratamento de indução hormonal, como por exemplo, *Piaractus mesopotamicus* e *Colossoma macropomum*, enquanto outras espécies, como *Brycon cephalus*, *B. orbignyanus*, *Leporinus obtusidens* e *Salminus brasiliensis (maxillosus)*, são muito agitadas e sofrem muito com o manejo da indução a desova, apresentando elevada taxa de mortalidade após a desova, ou morrendo antes mesmo de completar a maturação final e desova ou espermiacão.” (ZABIONI-FILHO e NUÑER, 2004, p.53).

5.4 Identificações do plantel

A identificação de reprodutores é de extrema importância, visto que a partir dela é possível distinguir os reprodutores quanto a dosagens de hormônios, hora de aplicação, e outros (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Outro ponto importante a respeito das identificações consiste no direcionamento das inseminações. De acordo com Gomes et al. (2010) tem sido notado, em alguns laboratórios, excesso de consanguinidade do plantel de reprodutores e isso pode afetar e muito a qualidade das larvas e jovens comercializados.

Segundo Zaniboni-Filho e Nuñer (2004) existem quatro tipos possíveis de marcação. A primeira consiste em remover parte das nadadeiras do peixe, porém essa técnica é de curta duração, já que as nadadeiras se regeneram, além disso, outro ponto negativo é a limitação de combinações.

A marcação a frio, feita através de uma marca mergulhada em nitrogênio líquido, também tem duração limitada, porém mais longa do que a técnica de remoção das nadadeiras, a vantagem dela é pelo fato de ser uma técnica que não afeta em nada o comportamento do peixe (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Ainda segundo Zaniboni-Filho e Nuñez (2004) a identificação mecânica permite a identificação de um número maior de animais e com uma quantidade maior de informação, porém ela pode ser facilmente perdida, principalmente quando mal fixada, uma fixação adequada seria feita no músculo ou osso, o que eleva o risco de infecção. A identificação com marcas internas é a melhor opção, elas são implantadas no músculo do animal, próximo a nadadeira dorsal, a desvantagem é que tem elevado custo.

6 SELEÇÃO E TRANSPORTE DE REPRODUTORES

“A capacidade de seleção de peixes maduros é vital para o sucesso do processo de indução da maturação final e desova, sendo considerada a etapa mais importante para o sucesso da desova. A seleção consiste na escolha de exemplares que estão com as gônadas no estágio de dormência, ou seja, aqueles peixes que têm maior probabilidade de responder positivamente ao tratamento de indução hormonal, resultando na ovulação ou espermiacção de gametas viáveis.” (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004, p.56).

Os critérios utilizados pelos produtores para determinar se o peixe se encontra no momento ideal à indução, são na sua maioria subjetivos. De acordo com Kubitzka (2004), as fêmeas adequadas à indução se encontram com o abdômen bem desenvolvido e macio ao toque, papila urogenital proeminente e rósea e orifício urogenital levemente aberto. Salvo algumas exceções dependendo da espécie.

Ainda de acordo com Kubitzka (2004), fêmeas de Piracanjuba quando maduras apresentam abdômen pouco volumoso.

Fêmeas com o abdômen muito baixo e flácido, geralmente se encontram já em fase de reabsorção dos óvulos e não respondem mais a indução hormonal (KUBITZA, 2004).

No caso dos machos, a maioria das espécies quando prontas a indução, sob leve massagem abdominal liberam uma pequena quantidade de sêmen (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004)

Espécies como Curimatá, Pacu e Piauçu, o macho emite sons quando maduro. Outras espécies como o Lambari, Piraputanga, Piracanjuba, Matrinxã e Dourado também durante o período reprodutivo apresentam espículas na nadadeira

anal. Essas características adicionais podem facilitar o processo de seleção (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004; KUBITZA, 2004).

Outro ponto de relevância é quanto ao transporte e manuseio desse peixe durante o processo de seleção e indução hormonal. Como já mencionado anteriormente, a manipulação desse animal pode ocasionar estresse e uma eventual reabsorção dos óvulos.

Alguns procedimentos recomendados por Zaniboni-Filho e Nuñez (2004) são, reduzir o número de peixes apreendidos na rede, quando for devolver os peixes no tanque ou colocá-los nas caixas no laboratório, fazer isso com cuidado, sem arremessar os animais. Sempre molhar equipamentos e as mãos que entraram em contato com o animal, evitando perda de muco.

Para reprodutores mais agitados utilizar sacos plásticos cheios da água tanto para transportar quanto para contenção no momento da aplicação, que deve ser feita nesse caso através do saco plástico. No caso de peixes mais calmos, a aplicação pode ser feita com o peixe dentro do tanque de espera do laboratório (KUBITZA, 2004).

Se nenhuma das alternativas anteriores for viável, o peixe pode ser manipulado fora da água, desde que sobre uma superfície macia recoberta por um plástico, e com os olhos vendados por um pano úmido, tudo isso da forma menos estressante possível (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004; KUBITZA, 2004).

Segundo Zaniboni-Filho e Nuñez (2004) a água utilizada durante o transporte deve ser levemente salgada com 1 a 2% de NaCl e a adição de oxigênio se torna necessária quando o transporte for por longas distancias e com densidade elevada (não recomendado).

Reprodutores de grande porte e muito agitados podem ser anestesiados com benzocaína (previamente dissolvida em um pouco de álcool) na concentração de 2 a 4 g/100 L de água, para preparar o banho anestésico (KUBITZA, 2004).

A utilização de anestésicos segundo Zaniboni-Filho e Nuñez (2004) vai reduzir atividade e o metabolismo do peixe. Porém a sedação só é possível quando os peixes são colocados em tanques específicos que contém a solução anestésica, e a maior parte do estresse ocorre durante a captura, ou seja, antes do peixe ser anestesiado.

7 INDUÇÃO

7.1 Tipos de hormônios

De acordo com Baldisserotto (2009), existem vários tipos de substâncias utilizadas para induzir a desova e espermição, cada uma delas age sobre um mecanismo de ação diferente. A dose que deve ser aplicada também varia de acordo com a substância utilizada, com a espécie e peso do animal, além da sua eficácia que também varia de acordo com a espécie, não sendo todos os hormônios eficazes para todas as espécies.

Os hormônios e os seus respectivos mecanismos de ação serão descritos mais a frente. Quanto à dosagem utilizada, será discutido em um tópico subsequente.

Uma das substâncias existentes são os antiestrógenos, que são compostos sintéticos que podem apresentar dois mecanismos de ação (BALDISSEROTTO, 2009). “Atuam sobre o hipotálamo, bloqueando os receptores de estrogênio e inibindo o feed-back negativo do estrogênio sobre a produção de GnRH. Assim o hipotálamo continua a secretar GnRH, que atuará sobre a hipófise, estimulando a secreção de gonadotropina.” (KUBITZA, 2004, p.12). O citrato de clomifeno é um exemplo de antiestrógeno que age sob esse mecanismo.

O outro mecanismo de ação pelo qual os antiestrógenos agem, é impedindo a ação da enzima aromatase, diminuindo a produção de 17β estradiol, resultando também em um aumento e secreção de gonadotropinas. Exemplo de compostos que agem sob esse mecanismo são o Tamoxifeno e o Fadrozole (BALDISSEROTTO, 2009).

Ainda segundo Baldisserotto (2009), para que os antiestrógenos tenham o efeito esperado, estes devem ser aplicados quando os níveis de estrógenos estiverem elevados.

Outra alternativa é a aplicação de hormônios liberadores de gonadotropinas, são eles, os GnRH e seus análogos, Pimozide e Domperidona (BALDISSEROTTO, 2009).

O LHRH que é um análogo de LH mamífero que estimula a liberação de gonadotropina, ovulação e desova. Cabe destacar que os análogos de GnRH não são aceitos no comércio Europeu (BALDISSEROTTO, 2009).

O Pimozolide é um antagonista que inibe a produção de dopamina, logo estimula a liberação das gonadotropinas. Domperidona, também é uma substância que inibe liberação de dopamina (BALDISSEROTTO, 2009). “Há indicação de que os inibidores de dopamina não apresentam importância no tratamento de indução hormonal de *Piaractus mesopotamicus*.” (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004, p.61)

De acordo com Zaniboni-Filho e Nuñer (2004), as vantagens da utilização de hormônios liberadores de gonadotropinas, são que atuam no início da cadeia hormonal, ou seja, estimula o próprio peixe a produzir gonadotropinas e são de fácil fabricação, apresentam boa estabilidade molecular, efetivas com pequenas dosagens e economicamente viáveis.

Uma outra característica dos análogos de GnRh é que retarda a ovulação em aproximadamente 40% do tempo, quando comparada com o uso de EPC (extrato de hipófise de carpa) (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004, p.64)

Os hormônios esteroides também são usados na indução hormonal, são eles progesteronas, a $17\alpha\text{OH-P}$ e $17\alpha20\beta\text{-P}$, que estimulam o final da maturação e ovulação. Apresentam melhores resultados quando aplicados em conjunto com hormônios gonadotrópicos. Os corticosteroides e os estrógenos e andrógenos, também estimulam maturação final e ovulação em algumas espécies de peixes (BALDISSEROTTO, 2009).

Outras substâncias como prostaglandinas estimulam comportamento de desova. Catecolaminas estimulam ovulação in vitro e ocitocina em algumas espécies pode provocar desova (BALDISSEROTTO, 2009).

As gonadotropinas em especial o extrato de hipófise é o hormônio mais utilizado para indução hormonal nos peixes migradores brasileiros, pode advir de hipófises de carpa ou salmão. Esse é o procedimento mais antigo usado para induzir hormonalmente a desova em peixes (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

O extrato de hipófise de acordo com Zaniboni-Filho e Nuñer (2004) atua como um complemento a gonadotropina produzida pelo peixe, que não é suficiente devido a falta de estímulos ambientais.

As vantagens dessa técnica são praticidade dos procedimentos e simplicidade dos equipamentos utilizados (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Além do extrato de hipófise outro hormônio gonadotrópico utilizado são as gonadotropinas de mamíferos. De acordo com Baldisserotto (2009) são facilmente obtidas no mercado, de baixo custo e podem ser armazenadas por longos períodos.

São eles o LH, o FSH e a gonadotropina coriônica humana (HCG). Porém o FSH não apresenta bons resultados para espermiacção, enquanto o HCG sim, entretanto algumas espécies desenvolvem anticorpos contra o HCG, quando usados repetidas vezes. O HCG em algumas espécies e conforme a dose pode induzir a desova e as vezes a maturação (BALDISSEROTTO, 2009).

É importante salientar que no caso dos machos, o que se pretende com a indução hormonal é o aumento do volume de sêmen, que está mais associado ao aumento da fluidez do que com o aumento do número de células espermáticas (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

7.2 Métodos de administração

São varias as formas de administração de hormônio, contudo um método não pode ser universal. A técnica a ser adotada depende da espécie do peixe, das condições locais e próprio experiência com aquela propriedade em específico (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989).

Segundo Zaniboni-Filho e Nuñer (2004), os hormônios utilizados na indução hormonal, são hidrossolúveis, ou seja, a administração é feita através de uma solução aquosa. Vários tipos de solução podem ser usados, no final os resultados são semelhantes. Outra forma de se administrar o hormônio é por via oral, entretanto essa técnica não é muito usada.

Ainda segundo Zaniboni-Filho e Nuñer (2004), a aplicação desses hormônios através de substâncias aquosas, permite que eles atinjam a circulação do peixe em minutos. Como forma de retardar essa absorção, uma alternativa é diluir esses hormônios em soluções orgânicas que são mais lentamente absorvidas, como por exemplo, colesterol e celulose. A diluição do hormônio em algum desses diluentes forma um pellet que pode ser aplicado de forma intramuscular ou intraperitônio.

“A quantidade de hormônio necessária para induzir a maturação final e a desova de peixes através de implantes é maior que aquela necessária com o uso de injeções.” (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004, p.62)

Como já dito antes o extrato de hipófise é o hormônio mais utilizado, para induzir maturação e desova nos peixes nativos. Por isso as técnicas a seguir se referem à manipulação e aplicação do extrato de hipófise.

De acordo com Kubitzka (2004), no caso de hipófises desidratada, deve-se macerar elas junto com uma solução de soro fisiológico. A quantidade de soro adicionada vai variar de acordo com o peso do reprodutor, não podendo passar de 0,5ml de soro por kg de reprodutor. No caso de reprodutores acima de 10kg, o máximo de soro que deve ser aplicado é 5ml.

O peso de uma hipófise desidratada varia, dependendo do peixe da qual foi retirada. Logo, para se ter uma ideia mais correta do peso de cada hipófise, o ideal seria agrupa-las em tamanho pequeno, médio e grande, e pesar cada um desses grupos (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989).

“Na hora de preparar a dose a ser utilizada, estime o peso total de fêmeas e machos e estime o peso total de hipófises que deverá ser utilizado.” (KUBITZA, 2004, p.17)

De acordo com Kubitzka (2004) o extrato de hipófise será administrado via injeção, que deve ser aplicada na nadadeira peitoral, com a solução sendo injetada dentro da cavidade abdominal. A agulha deve ser introduzida no sentido da cabeça para cauda, e com o peixe de lado. A agulha não deve ser nem muito longa e nem muito fina.

7.3 Doses recomendadas

A quantidade de hormônio gonadotrópico necessária para induzir a maturação final e desova vai depender de diversos fatores, como grau de maturação, espécie e método de aplicação, como já mencionado (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Ainda se tratando de forma mais específica de extrato de hipófise, segundo Zaniboni-Filho e Nuñer (2004), ele pode ainda apresentar variações na quantidade de gonadotropina presente na hipófise, o que vai depender do peixe em que foi coletada, sofre também interferência conforme se conserva esse produto.

Normalmente os machos recebem uma dose única de hormônio, geralmente quando as fêmeas recebem a segunda dose. E no caso das fêmeas são usadas duas aplicações, a primeira da dose preparatória com normalmente 10 a 20% da dose total e a segunda aplicação da dose decisiva com 80 a 90% da dose total (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989; KUBITZA, 2004).

Segundo Zaniboni-Filho e Nuñer (2004), a dose preparatória serve para estimular a migração da vesícula germinal e a dose decisiva para induzir a quebra da vesícula germinal, ovulação e desova.

O intervalo entre a dose preparatória e decisiva não deve ser menor do que 6 horas. Geralmente gira em torno de 8 a 10 horas, outras literaturas falam também em 12 horas (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004; KUBITZA, 2004).

Deve-se programar a aplicação da primeira dose de forma que a aplicação da segunda dose seja seguida de um período de elevação de temperatura. “Bons resultados na indução da desova são obtidos quando a segunda dose é aplicada em um período com temperatura ascendente. O aquecimento artificial da água dos aquários pode ser realizado.” (KUBITZA, 2004, p.20)

Na (Tabela 1) estão representadas as doses recomendadas de hormônio de acordo com a espécie.

Tabela 1 – Dosagens de hormônio recomendada de acordo com a espécie

Espécie	Fêmea		Macho		Unidade
	1° dose	2° dose	1° dose	2° dose	
Tambaqui ¹	0,5	5,0	-	2,5	mg/Kg de p.v
Pacu ²	0,5	5,0	-	1,0 a 2,0	mg/Kg de p.v
Piau ³	0,5	5,0	0,4	4,0	mg/Kg de p.v
Matrinxã ⁴	0,5	5,0	-	1,0 a 2,0	mg/Kg de p.v
Curimatã ⁵	3,3	6,7	-	5,0	mg/Kg de p.v
Pintado ⁶	0,5 a 0,6	4,5 a 5,9	-	0,5 a 1,0	mg/Kg de p.v

¹ *Colossoma macropomum*; ² *Piaractus mesopotamicus*; ³ *Leporinus sp.*; ⁴ *Brycon sp.*; ⁵ *Prochilodus sp.*; ⁶ *Pseudoplatystoma sp.*

Fonte: BALDISSEROTTO e GOMES (2010)

7.4 Conceito hora-grau

Há um tempo necessário entre a aplicação da dose decisiva e a ovulação, esse tempo vai depender da espécie que está sendo utilizada, da temperatura em que ela está sendo mantida e do tipo de hormônio utilizado, além é claro da dosagem usada, se está foi adequada (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Como já dito a temperatura afeta diretamente no tempo para que ocorra a ovulação, sendo que a relação é inversamente proporcional, quanto maior a temperatura, menor o tempo (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Ainda segundo Zaniboni-Filho e Nuñer (2004), para que se possa determinar esse tempo entre aplicação da segunda dose e ovulação, é utilizada a unidade chamada de hora-grau, ela considera tanto o tempo quanto à temperatura.

A determinação dessa hora-grau foi feita a partir de inúmeras observações, onde se calculava o tempo entre a aplicação da dose decisiva e ovulação e multiplicava pela média de temperatura no período (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Logo na propriedade basta o produtor dividir a hora-grau pela média da temperatura que ele obteve no período e saberá então aproximadamente á dali quantas horas vai ocorrer a desova (KUBTIZA, 2004).

Existe uma tabela que estabelece esses valores (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores da hora-grau e tempo aproximado para ocorrência da ovulação após indução hormonal de algumas espécies de peixes

	Temperatura da água (°C)	Hora- grau	Tempo aproximado entre a última dose e a ovulação
Tambaqui ¹	28 a 30	200-260	6 a 9
Pacu ²	25 a 29	210-250	7 a 10
Piauçu ³	25 a 29	180-200	6 a 8
Curimatã ⁴	25 a 29	190-220	6 a 9
Matrinxã ⁵	25 a 29	140-150	5 a 6
Pintado ⁶	23 a 25	180-260	7 a 11

¹ *Colossoma macropomum*; ² *Piaractus mesopotamicus*; ³ *Leporinus sp.*; ⁴ *Prochilodus sp.*; ⁵ *Brycon sp.*; ⁶ *Pseudoplatystoma sp.*

Fonte: Adaptado de KUBITZA (2004); CAMPOS (2010)

“Pelo menos uma hora antes da previsão os peixes devem ser observados atentamente, para não se perder o momento mais propício à extrusão ou para preparar o sistema de coleta de ovos, no caso de desova natural.” (KUBITZA, 2004, p.21)

Segundo Kubtiza (2004), um pouco antes de ovular as fêmeas ficam agitadas, quando na presença do macho, esses perseguem as fêmeas. No momento da ovulação as fêmeas apresentam tremores musculares.

Quando não tiver como visualizar esses comportamentos, pode-se manipular as fêmeas com bastante cuidado, abdômen flácido e a saída de óvulos sob uma leve pressão indicam que a fêmea já ovulou (KUBITZA, 2004).

8 DESOVA SEMI NATURAL E POR EXTRUSÃO

Varias espécies de peixe quando submetidas a tratamento hormonal desovam na presença dos machos. Os óvulos liberados são fertilizados pelos machos ainda no próprio tanque e depois recolhidos e levados para as incubadoras (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989; ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Esse tipo de desova pode ser chamado de desova semi-natural, desova induzida, ou até desova induzida por hormônios (FILHO e NUÑER, 2004).

De acordo com Woynarovich e Horváth (1989), as espécies ideais para se realizar esse tipo de desova são as que apresentam ovos não-aderentes, flutuantes e semiflutuantes.

Segundo Zaniboni-Filho e Nuñer (2004) as desvantagens da desova semi-natural são, necessidade de retirada dos ovos do tanque, o que acaba por prejudicar os embriões e risco de infecções por fungos, o que reduz a taxa de sobrevivência dos ovos.

“A comparação dos resultados obtidos através da desova semi-natural com aqueles da desova por extrusão, em *Leporinus macrocephalus*, revelou uma maior taxa de sobrevivência dos reprodutores e maior taxa de fertilização dos ovos quando a desova é semi-natural.” (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004, p.63)

A desova por extrusão segundo Zaniboni-Filho e Nuñer (2004), é o método mais utilizado no Brasil. Suas vantagens são que reduz custo de mão de obra, custo com tanques especiais para desova, permite cruzamento a fim de melhoramento genético, permite uma utilização mais eficiente do sêmen através de diluição ou mesmo criopreservação.

Segundo Kubitza (2004) as fêmeas em ovulação devem ser manuseadas como poro genital fechado, evitando a saída dos óvulos. Antes da extrusão a região

ventral da fêmea deve ser seca com toalha macia, os óvulos devem ser extrusados suavemente, através da massagem abdominal.

9 CRIOPRESERVAÇÃO DE GAMETAS

A manutenção de reprodutores em cativeiro, exigem uma infra-estrutura e manejo diferenciados, o que acaba por gerar custos altos para o processo produtivo. Além disso, várias espécies nativas têm os seus reprodutores vindos de ambiente selvagem (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Visto tudo isso a criopreservação de gametas vêm como estratégia para reduzir tamanho do plantel, otimizar processo reprodutivo, preservar genoma selvagem, dentre outras vantagens (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

De acordo com Maria e Carneiro (2012), para que se obtenha sucesso na criopreservação, a coleta de sêmen, deve ser bem feita evitando o contato do sêmen com a água, outra questão é quanto à avaliação microscópica da qualidade seminal, visto que não faz sentido preservar um sêmen que não atenda aos padrões de qualidade.

A criopreservação em si consiste primeiramente na diluição do sêmen em uma solução crioprotetora, que deve conter um crioprotetor intracelular e um extracelular. O crioprotetor tem a função de assegurar a não ativação dos espermatozoides durante o armazenamento e proteger contra a formação de cristais de gelo (SUQUET et al., 2000 e BILLARD et al., 2004 citados por MARIA e CARNEIRO, 2012).

Os crioprotetores antes de serem misturados ao sêmen devem ser diluídos, o principal diluidor utilizado para peixes nativos é a solução de glicose geralmente na concentração de 5% (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004; MARIA e CARNEIRO, 2012).

Entre os crioprotetores intracelulares os mais comuns são o dimetilsulfóxido (DMSO) e o metilglicol, que são misturados em concentração entre 5 e 10%. Entre os crioprotetores extracelulares têm-se a gema de ovo (adicionada em concentração entre 5 e 10%) e o leite em pó (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004; MARIA e CARNEIRO, 2012).

No entanto essa combinação de crioprotetores pode variar de acordo com a espécie, devendo ser feitos experimentos para avaliar sua eficácia de acordo com a espécie (MARIA e CARNEIRO, 2012).

A velocidade de congelamento é outro fator de extrema importância, ela vai influenciar também na severidade dos danos físicos causados aos espermatozoides. Durante o congelamento os principais danos ocorrem entre -5°C e -15°C , que é a faixa de formação de cristais de gelo (MAZUR, 1977 e MAZUR, 1984 citados por MARIA e CARNEIRO, 2012).

Para a criopreservação de sêmen são utilizados botijões de nitrogênio líquido, eles apresentam velocidade de congelamento entre -25 e -40°C por minuto e estabilização por volta dos 3 minutos a -180°C (MARIA e CARNEIRO, 2012).

Segundo Maria e Carneiro (2012), outro ponto de extrema importância no sucesso da técnica é o descongelamento. Enquanto o congelamento consiste em desidratar a célula o descongelamento consiste em reidratá-la. Para que esse processo obtenha êxito o descongelamento deve ser rápido, evitando assim a recristalização.

Normalmente se usam para congelar o sêmen palhetas de 0,5 ml, essas são descongeladas geralmente imersas em água a temperatura de 30 a 60°C , por volta de 3 a 8 segundos (MARIA e CARNEIRO, 2012).

“Os diferentes graus de sucesso obtidos na utilização do sêmen criopreservado das espécies migradoras brasileiras indicam a necessidade de refinamento do protocolo para determinação precisa dos procedimentos a serem utilizados.” (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004, p.67)

Segundo Zaniboni-Filho e Nuñer (2004), quanto a criopreservação de ovos e embriões, ainda não se obteve sucesso, provavelmente porque os ovos e embriões são estruturas espessas, que contêm grande quantidade de vitelo que por sua vez é recoberto pelo córion, tudo isso dificulta a penetração dos crioprotetores convencionais.

Ou seja, ainda serão necessários muitos estudos antes que se consigam resultados satisfatórios na conservação de ovos e embriões de peixes.

10 FECUNDAÇÃO

A fecundação ou fertilização deve ser realizada a partir do método de extrusão a seco, (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004). O procedimento consiste em reunir óvulos e sêmen em um recipiente e mistura-los delicadamente, isso com adição contínua de água (KUBITZA, 2004).

Considerando o comportamento dos gametas em contato com a água, a fertilização a seco é a melhor alternativa, por isso então a necessidade de secar o reprodutor antes da extrusão. Para que, durante a extrusão dos óvulos e do sêmen, o contato destes com a água possa ser evitado (KUBITZA, 2004).

“O procedimento de fertilização a seco possibilita a vantagem de ampliar o tempo para o manejo dos gametas, permitindo a separação e a quantificação da desova nas porções a serem estocadas em incubadoras distintas, além de aumentar a taxa de fertilização.” (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004, p.64)

Quanto ao comportamento dos gametas, no caso das células espermáticas, elas são imóveis no testículo o que se deve a elevada concentração de potássio presente na célula, quando o esperma entra em contato com a água o potássio é diluído, e então os espermatozoides são ativados (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

Os óvulos por sua vez depois de hidratados iniciam o fechamento da micrópila, que é o ponto de entrada do espermatozoide no óvulo (KUBITZA, 2004). Tanto a motilidade do sêmen quanto a abertura da micrópila do óvulo, permanecem por volta de um minuto após o contato com a água (ZANIBONI-FILHO e NUÑER, 2004).

No momento da adição da água, a quantidade deve ser bem dimensionada, muita água pode causar a diluição do sêmen, logo menores serão as chances dele encontrar a micrópila. Enquanto que pouca água pode causar obstrução da micrópila em decorrência do muco do ovário (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989).

O uso de água do tanque para ativação dos gametas produz boas taxas de fertilização, porém há também algumas soluções que pode ser usadas, porém a funcionalidade de uma solução deve ser testada de acordo com a espécie (KUBITZA, 2004).

“Os ovos fecundados, após descansar ao redor de 1 a 2 minutos na solução de fertilização, para completar sua hidratação, sendo em seguida transferidos para

as incubadoras onde ocorrerá todo o desenvolvimento embrionário e o nascimento das larvas.” (KUBITZA, 2004, p.24)

Segundo Padua (2001), obtém-se cerca de 100.000 óvulos por kg de fêmea e cerca de 10 ml de sêmen por macho, porém é claro que estas proporções variam de acordo com a espécie, estágio de maturação dentre outros fatores.

Ainda segundo Padua (2001), normalmente se usam a proporção de um macho para duas a três fêmeas. Geralmente um ml de sêmen é o suficiente para fertilizar mil óvulos. É importante frisar que essas proporções também variam de acordo com a espécie, portanto o ideal é sempre observar as recomendações à espécie.

11 HIBRIDIZAÇÃO

A hibridização consiste em acasalar indivíduos da mesma espécie, o que é chamado de cruzamento entre linhagens. Ou acasalar indivíduos de espécies distintas, chamado de hibridização interespecífica (PORTO-FORESTI et al., 2010).

Segundo Porto-Foresti et al. (2010) a hibridização interespecífica é o método mais utilizado nas pisciculturas atualmente. Ela tem por finalidade obter indivíduos melhores geneticamente, e que apresentem características econômicas desejáveis (PAULA, 2009).

De um modo geral a prole apresenta um desempenho melhor do que a média dos parentais, ou seja, apresenta uma heterose positiva, ou o que pode ser chamado também de vigor híbrido (PORTO-FORESTI et al., 2010).

Mora (2005) citado por Paula (2007) realizou um experimento em que avaliava o rendimento de carcaça da Pirapitinga e do Tambatinga, e o híbrido apresentou valores superiores para carcaça eviscerada. Comprovando a superioridade do híbrido sobre seus parentais.

A ocorrência da hibridização interespecífica é observada inclusive em condições naturais, sendo comum em peixes de água doce. Isso ocorre provavelmente pela própria característica fisiológica e comportamental do peixe (fecundação externa e competição por ambiente de desova) e também devido a modificações feitas pelo homem no ambiente natural (PORTO-FORESTI et al., 2010 e PAULA, 2007).

Apesar de ser observada a hibridização na própria natureza, o ideal seria que os programas de hibridização produzissem apenas indivíduos estéreis. Visto que mesmo estéreis apresentam riscos para as populações selvagens, já que competem por alimento e espaço (PORTO-FORESTI et al., 2010 e PAULA, 2007).

Segundo Paula (2007), os híbridos podem apresentar desde uma fertilidade completa até uma esterilidade completa, havendo inúmeras variações entre um e outro.

“Os híbridos machos de Tambacu e Paqui possuem a capacidade de liberar sêmen quando submetidos a compressão abdominal na frequência de 3,8 e 30%, respectivamente. Porém, no Paqui a concentração espermática é sete vezes inferior a do pacu. Nas fêmeas, não foram verificadas produções de óvulos, sugerindo que possuem gônadas atrofiadas.”(TOLEDO-FILHO et al., 1994 citado por PAULA, 2007, p.13)

De acordo com Porto-Foresti et al. (2010), os híbridos que apresentam algum tipo de fertilidade são os que mais causam impactos as populações selvagens, provocando contaminação genética, podendo causar até extinção dos parentais.

Entre os híbridos produzidos no Brasil estão, o Tambacu (*Colossoma macropomum* fêmea x *Piaractus mesopotamicus* macho), o Paqui (*Piaractus mesopotamicus* fêmea x *Colossoma macropomum* macho), o Tambatinga (*C. macropomum* fêmea x *Piaractus bachypomus* macho), Patinga (*P. mesopotamicus* fêmea x *P. brachypomus* macho), Jundiara ou Pintado amazônico (*Leiarius marmoratus* fêmea x *Pseudoplatystoma fasciatum* macho), Pintachara (*Pseudoplatystoma corruscans* fêmea x *P. fasciatum* macho), dentre outros.

A comercialização e venda de híbridos já se tornou segundo Porto-Foresti et al. (2010) prática comum e de grande escala nas pisciculturas brasileiras, porém isso é feito sem nenhum monitoramento.

Um dos principais problemas disso é o risco de fuga desses exemplares para a natureza, o que é um dos principais meios de dispersão de espécies exóticas. A difícil identificação desses animais também gera um grave problema, levando o consumidor a acabar comprando um exemplar híbrido imaginando ser de espécies puras (PORTO-FORESTI et al., 2010).

O Decreto N.7862, de 22 de abril de 2013, que regulamenta a atividade de aquicultura no Estado de Goiás decreta na Seção VI, que como medida de

segurança e controle da poluição, devem ser implantados tanques de decantação, com o uso de tela metálica com malha de oito milímetros entre nós na saída tanque, além do uso de peixes nativos predadores de ocorrência natural na bacia, no tanque de decantação (BRASIL, 2013).

Outro meio de se evitar os transtornos que a produção de híbridos pode causar, é através da identificação que se faz necessária na produção de híbridos.

Segundo Paula (2007) a identificação pode ser feita através de características morfológicas, porém em alguns casos como o do híbrido Tambacu e outros essa identificação é muito difícil, sendo necessário então o uso de marcadores genéticos. E é exatamente o fato da identificação morfológica ser de difícil mensuração que torna a questão dos híbridos um problema ecológico.

12 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base em todas as informações reunidas, verifica-se que a prática da reprodução é de extrema importância para o sucesso da piscicultura moderna.

Contudo, ainda falta muito conhecimento, principalmente ao que se refere a uma espécie em específico, sendo normalmente abordado as espécies em conjunto, como por exemplo, teleósteos (peixes ósseos).

Mesmo em espécies da mesma bacia, como por exemplo, o Tambaqui e o Pacu, possuem variações quanto ao melhor hormônio a ser utilizados pra indução, melhor solução de diluição e outros. Por isso já se vê a importância de conhecer a espécie em sua individualidade.

Outro ponto chave para o advento da piscicultura é que se refere ao manejo dos reprodutores, antes, durante e após a reprodução. Questões como alimentação dos reprodutores ainda é pouco entendida.

Entretanto, alguns conceitos e práticas já são mais do que consolidados, e foram esses que proporcionaram o avanço, possibilitando atingir melhor desempenho da piscicultura atual.

Buscando, ainda, mais avanços estudos continuam a ser feitos, procurando o aprimoramento de novas tecnologias, ainda pouco entendidas, como criopreservação de gametas e melhoramento genético da espécie.

Melhoramento que muitas vezes é obtido através do uso de técnicas como hibridização, que em muitos aspectos é questionada, porém apesar disso, apresenta vantagens econômicas e, portanto, é amplamente utilizada.

Com isso, conclui-se que apesar de ainda haver muito a ser entendido e estudado, o que possuímos até então já é de grande valia e já permite que uma reprodução bem sucedida seja feita. Observando sempre tudo que foi mencionado, e procurando também estar por dentro do que aparece de novo no meio acadêmico.

13 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 2.ed. Santa Maria, Ed UFSM, 2009, 349p.

BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2.ed. Santa Maria, Ed UFSM, 2010, 608p.

BRASIL, DECRETO Nº 7.862, DE 22 DE ABRIL DE 2013. **Regulamenta a atividade de aquicultura no Estado de Goiás e dá outras providências**. Secretaria de estado da casa civil, Goiânia, GO, 2013

BRASIL. Boletim estratégico da pesca e aquicultura. Ministério da Pesca e aquicultura, Brasília, 2010. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%C3%ADstico%20MPA%202010.pdf> Acesso em: 10 julh. 2013, 23:23:23

CAMPOS, J.L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*, Spix; Agassiz, 1829), outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2.ed. Santa Maria, Ed UFSM, 2010, p.335-361

CASTAGNOLLI, N. Estado da arte da aquicultura brasileira. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo, [s.n.], 2004, p.1-6

FONSECA, F.A.L.; ITUASSÚ, D.R.; CAVERO, B.A.S.; BORDINHON, A.M. Cultivo de curimatã (*Prochilodus spp*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2.ed. Santa Maria, Ed UFSM, 2010, p.57-71

GOMES, L.C.; SIMÕES, L.N.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2.ed. Santa Maria, Ed UFSM, 2010, p.175-204

GUTIÉRREZ, M.E.M. **Evolução do processo de espermição em machos de piau, *Leporinus macrocephalus*, hormonalmente induzidos à reprodução**. 2011. 129p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Campos de Jaboricabal – Jaboricabal, SP.

IAP (INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ). Informe sobre a piracema. Paraná, [entre 2008 e 2013] 1p. Disponível em: <<http://www.iap.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=706>> Acesso em: 10 jul. 2013, 23:12:30

KAVAMOTO, E.T.; NARAHARA, M.Y.; ANDRADE-TALMELLI, E.F. **Mudanças morfológicas dos testículos de Curimatã *Prochilodus scrofa* (Steindachner) (Teleostei, Prochilodontidae), submetido à indução hormonal.** Revista brasileira de Zootecnia, v. 15, n.1, p.109-115, 1998.

KUBITZA, F. **Reprodução, Larvicultura e Produção de Alevinos de peixes Nativos.** 1.ed. Jundiaí, [s.n.], 2004, 71p.

MARIA, A.N.; CARNEIRO, P.C.F. **Criopreservação de sêmen de peixes no Brasil: estado da arte e perspectivas futuras.** Ciência Animal v.22, n.1, , p.124-131, 2012

NUNES, L.R. **Toxicidade aguda e efeito subletal do roundup transorb nos testículos de mato grosso *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882) (Teleostei: Characidae).** 2011. 50p. Dissertação de pós-graduação. Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG

PADUA, D.M.C. **Fundamentos de piscicultura.** 2.ed. Goiânia, Ed UCG, 2001, 341p.

PAULA, F.G. **Desempenho do tambaqui (*Colossoma macropomum*), de pirapitinga (*Piaractus brachypomum*), e do híbrido tambatinga (*C. macropomum* x *P. brachypomum*) mantidos em viveiros fertilizados, na fase de engorda.** 2009. 57 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás – Goiânia, GO.

PAULA, F.G. **Hibridização em espécies de peixes nativos.** 2007. 29 p. Monografia (Curso de pós-graduação). Universidade Federal de Lavras – Lavras, MG.

PORTO-FORESTI, F.; HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F. **Hibridização em piscicultura: monitoramento e perspectivas.** In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil.** 2.ed. Santa Maria, Ed UFSM, 2010, p.589-606

RIBEIRO, D.C.J. **Biologia reprodutiva do pirá *Conorhynchus conirostris* Valenciennes, 1840 (Pisces:Pimelodidae) do rio são Francisco, região de Pirapora, minas gerais.** 2002. 58p. Dissertação de mestrado. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais – Belo Horizonte, MG.

ROMAGOSA, E.; BITTENCOURT, F.; BOSCOLO, W.R. Nutrição e alimentação de reprodutores. In: FRACALLOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. **Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira.** Florianópolis, [s.n.], 2012, 375p.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais.** Brasília, Ed CODEVASF, 1989, p.225

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALLOSSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva.** São Paulo, [s.n.], 2004, p.45-73

14 ANEXOS

ANEXO A - Migração



Fonte: www.infoescola.com

ANEXO B – Fêmea pronta para receber a indução



Fonte: PAULA, 2012

ANEXO C – Macho pronto para receber a indução



Fonte: PAULA, 2012

ANEXO D - Administração de hormônio



Fonte: GOMIDES, 2012

ANEXO E – Extrusão de óvulos



Fonte: PAULA, 2012

ANEXO F - Fecundação



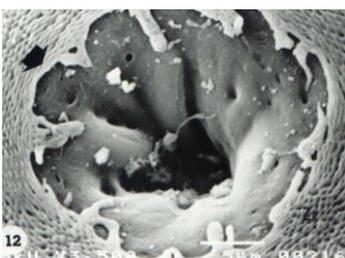
Fonte: PAULA, 2012

ANEXO G - Fecundação



Fonte: PAULA, 2012

ANEXO H – Abertura da micrópila



Fonte: GANECO e NAKAGHI, 2003