



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS JATAÍ
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR
OBRIGATÓRIO



WESLEY FERNANDES BRAGA

MANEJO REPRODUTIVO DE PEIXES NATIVOS

JATAÍ - GOIÁS
2013

WESLEY FERNANDES BRAGA

MANEJO REPRODUTIVO DE PEIXES NATIVOS

Orientador: Prof. Dr. Igo Gomes Guimarães

Relatório de Estágio Curricular Obrigatório
apresentado à Universidade Federal de
Goiás – UFG, Campus Jataí, como parte
das exigências para a obtenção do título
de Zootecnista.

JATAÍ - GOIÁS
2013

WESLEY FERNANDES BRAGA

Relatório de Estágio Curricular Obrigatório para Conclusão do curso de Graduação em Zootecnia, defendido e aprovado em 07 de março de 2013, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Igo Gomes Guimarães UFG - Jataí
Presidente da Banca

Prof. Dr. Silvio Luiz de Oliveira UFG – Jataí
Membro da Banca

MSc. Rafael Yutaka Kuradomi CAUNESP - SP
Membro da Banca

Dedico este trabalho a todos os meus familiares, amigos, colegas e professores, pelo apoio incondicional dado em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTO

Acima de tudo a Deus, pela dádiva da vida e por ter iluminado o meu caminho colocando pessoas certas em minha vida, que me ajudaram a chegar até aqui.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) – Jaboticabal, pela oportunidade de realização do estágio curricular obrigatório.

Aos meninos da República Carandiru, os quais me acolheram, apoiaram e me ajudaram durante a realização do meu estágio em lavras.

Aos meninos do laboratório de reprodução de peixes da CAUNESP, pelo carinho e amizade construída durante este período que lá passei.

Ao Professor orientador Dr. Igo Gomes Guimarães, por me orientar durante todo esse período que venho trabalhando com peixes, ensinando e me incentivando a continuar a busca por novos conhecimentos.

Aos supervisores Dr. Raimundo Vicente de Sousa e Dr. Sergio Ricardo Batlouni, por aceitaram o pedido de me supervisionar e assim contribuir para minha formação acadêmica.

Ao professor Dr. Silvio Luiz de Oliveira, por sempre está ao meu lado durante todo este período de graduação me apoiando e me mostrando verdades.

Aos amigos, colegas de faculdade e companheiros de laboratórios os quais levarei por toda a minha vida, em especial Tiago Ronimar, Thiago Moraes, Thiago Quirino, Cris Souto, Marcos Lemos e Hugo Vinicius pela amizade, respeito, auxílio e contribuições prestadas na hora certa.

Aos empresários e amigos Marlon Boese Hudson e Lilian Boese Hudson do Projeto Tambacu, por abrirem as portas de sua empresa.

A minha namorada Jéssica pelo amor, amizade, paciência, dedicação e pelas contribuições durante todo este período que estamos juntos. A minha sogra Nilva pelo amor carinho e apoio incondicional, AMO MUITO VOCÊS.

A todos que de alguma forma contribuíram com a realização deste sonho

Um grande abraço a todos! E o meu

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

| | |
|--|-----|
| Lista de Figuras..... | vii |
| 1. IDENTIFICAÇÃO | 2 |
| 2. LOCAL DE ESTÁGIO | 2 |
| 3. DESCRIÇÃO DO CAMPO DE ESTÁGIO | 3 |
| 3.1. Universidade Federal de Lavras (UFLA)..... | 3 |
| 3.2. Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP)..... | 7 |
| 4. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS..... | 12 |
| 4.1. Captura, Seleção e Transporte dos Reprodutores..... | 12 |
| 4.2. Identificação, Marcação e Pesagem dos Reprodutores..... | 17 |
| 4.3. Indução Hormonal..... | 19 |
| 4.3.1. Preparação do Hormônio..... | 21 |
| 4.3.1.1. Exemplo de Cálculo de Hormônio..... | 22 |
| 4.3.2. Locais e Forma de Aplicação do Hormônio | 25 |
| 4.4. Coleta de Gametas (Desova)..... | 26 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 31 |
| REFERÊNCIAS..... | 32 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Salas de laboratório do biotério. A) Cultivo celular. B) Fotoperíodo. C) Desenvolvimento embrionário e Criopreservação. D) Sala de experimento envolvendo curimba. E) Sala de experimento envolvendo “Zebra Fish”. F) Sistema de incubadoras..... | 4 |
| Figura 2. Estação de piscicultura de Itutinga - MG..... | 5 |
| Figura 3. Laboratório de reprodução de Itutinga. A) Aquários dos reprodutores e incubadoras. B) Sala de Larvicultura. C) Sala de pesagem e microscopia. D) Depósito de Ração..... | 6 |
| Figura 4. A) Aquecedor. B) Compressor. C) Tubos para a passagem do ar. D) Bomba de água..... | 7 |
| Figura 5. Caixas destinadas aos reprodutores..... | 9 |
| Figura 6. Sistema de incubadoras..... | 9 |
| Figura 7. A) Incubadoras colocadas na sala dos reprodutores. B) Incubadoras colocadas em estufa da parte externa do laboratório..... | 10 |
| Figura 8. Sala de pesagem e de microscopia | 10 |
| Figura 9. Viveiros escavados | 11 |
| Figura 10. Reservatório de água..... | 11 |
| Figura 11. A) Arraste realizado na Piscicultura de Itutinga. B) Arraste realizado na CAUNESP..... | 12 |
| Figura 12. A) Seleção dos Reprodutores na piscicultura de Itutinga. B) Seleção dos Reprodutores no CAUNESP..... | 13 |
| Figura 13. Características observadas na fêmea na hora de fazer a seleção | 13 |
| Figura 14. Introdução de cânula no orifício genital..... | 14 |

| | |
|--|----|
| Figura 15. A) Caixas plásticas com oxigenação. B) Sacola de transporte. | 15 |
| Figura 16. Os Reprodutores são colocados em: A) Caixas Plásticas no Laboratório do CAUNESP. B) Em Aquários no Laboratório de Itutinga. | 15 |
| Figura 17. Posição da vesícula germinativa..... | 16 |
| Figura 18. A) Aplicador e leitor de microchip. B) Aplicação na cavidade abdominal. | 17 |
| Figura 19..... | 18 |
| Figura 20. A) Pesagem dos peixes em Itutinga. B) Pesagem dos peixes no CAUNESP..... | 18 |
| Figura 21. A) Hipófises alocadas em um pistilo. B) Pasta formada após adicionar glicerina e solução fisiológica. | 21 |
| Figura 22. Localização dos pontos de aplicação de hormônio, durante a indução hormonal. 1) Intramuscular: inserir a agulha na musculatura abaixo da nadadeira dorsal, 2) Intracaudal: inserir a agulha próxima à nadadeira caudal, 3) Intrabdominal: inserir a agulha abaixo da nadadeira pélvica. 4) Atrás da nadadeira peitoral existe uma região sem escamas de fácil acesso a musculatura..... | 25 |
| Figura 23. Processo de extrusão em fêmeas..... | 26 |
| Figura 24. A) Sêmen sendo colocado diretamente nos ovócitos. B) Sêmen sendo coletado pela seringa. | 27 |
| Figura 25. Ativação dos espermatozóides | 28 |
| Figura 26. Lavagem dos ovos..... | 29 |
| Figura 27. Soltura dos ovos nas incubadoras | 30 |
| Figura 28. Taxa de Fertilização | 30 |
| Figura 29. A) Balde coletor. B) Arraçoamentos das pós-larvas..... | 31 |

1. IDENTIFICAÇÃO

Wesley Fernandes Braga, filho de Nadir Fernandes Prado e Elter Francisco Braga, natural de Jataí – Goiás nasceu em 15/ 01/ 1990. Coursou o 1º grau no Colégio Estadual Nestório Ribeiro e o 2º grau no Colégio Estadual José Feliciano Ferreira ambos em localizado em Jataí – Goiás.

2. LOCAL DE ESTÁGIO

O estágio supervisionado foi dividido em duas partes, sendo a primeira parte realizada na Universidade Federal de Lavras – UFLA, no setor de Fisiologia e Farmacologia Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária, localizada no Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 Lavras/MG, Brasil, de 06 de novembro de 2012 a 15 de dezembro de 2012, sob a supervisão do professor Dr. Raimundo Vicente de Sousa, totalizando uma carga horária de 220 horas. A segunda parte do estágio foi realizada no Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, no laboratório de reprodução de peixes localizada na via Prof. Paulo Donato Castellane, s/n 14884-900 Jaboticabal/SP, Brasil, de 17 de dezembro a 25 de janeiro, sob a supervisão do professor Dr. Sergio Ricardo Batlouni, totalizando uma carga horária de 240 horas.

Esse relatório tem como principal objetivo relatar e avaliar as atividades desenvolvidas ou acompanhadas durante a realização do estágio supervisionado pelo acadêmico Wesley Fernandes Braga, sob a orientação do professor Dr. Igo Gomes Guimarães.

Os locais de estágios foram escolhidos, devido serem instituições bastante renomadas na área de zootecnia, as quais oferecem uma infraestrutura que possibilita que o acadêmico consiga aplicar toda a teoria vista durante o curso de zootecnia com a prática que é presenciada no dia a dia das empresas.

3. DESCRIÇÃO DO CAMPO DE ESTÁGIO

3.1. UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS (UFLA)

O Departamento de Medicina Veterinária (DMV) está organizado em uma estrutura setorial composta por nove setores funcionais (Cirurgia, Clínica de Grandes Animais, Clínica de Pequenos Animais, Fisiologia e Farmacologia, Informática, Medicina Veterinária Preventiva e Epidemiologia, Morfologia, Patologia e Reprodução Animal), os quais, conta com laboratórios nas áreas de anatomia, histologia, fisiologia, farmacologia, patologia, análises clínicas, parasitologia, microbiologia, virologia, epidemiologia, reprodução animal, bem como, biotério central e instalações hospitalares para procedimentos clínicos e cirúrgicos de pequenos animais.

O Setor de Fisiologia e Farmacologia (SFF) conta com uma equipe de cinco docentes e um técnico administrativo. Dentre estes professores, o supervisor do presente estágio foi o professor Dr. Raimundo Vicente de Sousa, o qual possui experiência nas áreas de Metabolismo Animal e Farmacologia Veterinária, trabalhando principalmente com Metabolismo de carboidratos e lipídeos e atividade biológica de produtos naturais em animais domésticos e de laboratório. Outro professor do setor que também colaborou com a supervisão foi o professor Dr. Luis David Solis Murgas, o qual possui experiência na área de nutrição e reprodução animal, trabalhando atualmente com a interação nutrição e reprodução em peixes e com biotecnologias aplicadas na reprodução de peixes.

As atividades do estágio foram realizadas no biotério central, o qual conta com uma estrutura para atender à demanda de animais para pesquisas laboratoriais da UFLA. Para isso, ele é constituído por duas alas contendo seis salas em cada ala. Em uma das alas são criados roedores e na outra ala são criados animais aquáticos. Na ala onde são criados animais aquáticos, conta com laboratório de cultivo celular (Figura 1A), de fotoperíodo (Figura 1B), de desenvolvimento embrionário e criopreservação (Figura 1C), além de mais outras duas salas que estavam sendo utilizadas para a experimentação com Curimba (*Prochilodus scrofa*) (Figura 1D) e com “Zebra Fish” (*Brachydanio rerio*) (Figura 1E). Também possui uma sala de apoio, onde estava sendo utilizada para a

manutenção de equipamentos e de um sistema de incubadoras que ainda estava em teste (Figura 1F).

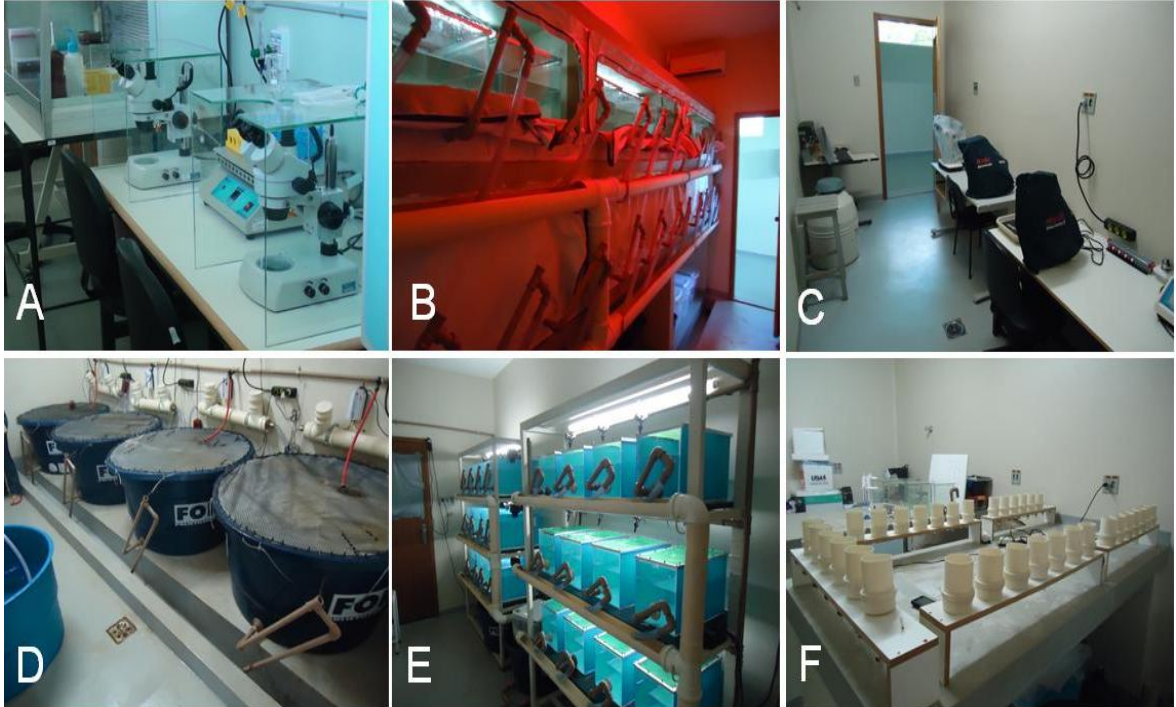


Figura 1. Salas de laboratório do biotério. A) Cultivo celular. B) Fotoperíodo. C) Desenvolvimento embrionário e Criopreservação. D) Sala de experimento envolvendo curimba. E) Sala de experimento envolvendo “Zebra Fish”. F) Sistema de incubadoras.

Outras atividades também foram realizadas em uma Estação de Piscicultura (Figura 2), localizada na Estação Ambiental de Itutinga (EAITU), a qual está às margens dos reservatórios das usinas hidrelétricas de Camargos e Itutinga. Esta piscicultura fica aproximadamente 45 km de Lavras – MG no município de Itutinga – MG.



Figura 2. Estação de piscicultura de Itutinga - MG

A EAITU possui um programa de peixamento que tem como objetivo o repovoamento, conservação e manutenção das espécies nativas do Rio Grande, além de garantir o aumento da produção pesqueira e atender as condicionantes ambientais da Companhia Energética de Minas Gerais S.A. (CEMIG). Na estação são produzidos, atualmente, alevinos de seis espécies de peixes nativos da bacia do Rio Grande: Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*), Piapara (*Leporinus obtusidens*), Dourado (*Salminus brasiliensis*), Curimba (*Prichilodus lineatus*), Pirapitinga (*Brycon nattereri*) e Tabarana (*Salminus hilarii*).

A Estação de Piscicultura de Itutinga possui dezesseis tanques escavados em terra com uma área total de lâmina d'água de 5200 m², uma lagoa de decantação com 600 m², na saída do sistema, que recebe todos os efluentes gerados nos tanques restantes.

Para reprodução artificial das espécies de piracema, o laboratório de reprodução é constituído por: área de desova e eclosão (Figura 3A), sala larvicultura (Figura 3B), sala de pesagem e microscopia (Figura 3C), e outra sala para o depósito de ração (Figura 3D).



Figura 3. Laboratório de reprodução de Itutinga. A) Aquários dos reprodutores e incubadoras. B) Sala de Larvicultura. C) Sala de pesagem e microscopia. D) Depósito de Ração.

Na área de desova e eclosão, possui quatros aquários com capacidade total de 2000 L e 16 incubadoras de 200 L. Na sala de larvicultura possui mais quatro aquários da mesma capacidade e mais nove incubadoras para a eclosão das artêmias.

O laboratório também conta com um aquecedor (Figura 4A), o qual mantém a temperatura da água de acordo com o que é recomendado para a espécie, e também conta com um compressor (Figura 4B) que via tubulação chega até os aquários e promove a aeração da água (Figura 4C). A água utilizada pela piscicultura é retirada do rio, através de uma bomba (Figura 4D).



Figura 4. A) Aquecedor. B) Compressor. C) Tubos para a passagem do ar. D) Bomba de água.

3.2. CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP (CAUNESP)

O Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) é uma unidade complementar da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP). Atualmente as Unidades Universitárias que integram o CAUNESP são:

- Campus Experimental da UNESP/Dracena
- Campus Experimental do Litoral Paulista – UNESP/São Vicente
- Faculdade de Ciências – UNESP/Bauru
- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP/Jaboticabal
- Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP/Botucatu
- Faculdade de Engenharia - UNESP/Ilha Solteira
- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu
- Instituto de Biociências – UNESP/Botucatu
- Instituto de Biociências – UNESP/Rio Claro
- Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – UNESP/São José do Rio Preto.

O CAUNESP da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP/Jaboticabal conta com vários setores e laboratórios próprios, tais como:

- Setor de Carcinicultura
- Setor de Ranicultura
- Setor de Piscicultura
- Laboratório de Reprodução de Peixes
- Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton
- Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos
- Laboratório de Peixes ornamentais
- Tilapicultura

O Laboratório de Reprodução de Peixes, onde foi realizado o presente estágio, têm como objetivo promover o desenvolvimento de tecnologias de produção e projetos de pesquisas, principalmente, voltados para a reprodução de espécies de peixes nativas.

A equipe do Laboratório é constituída pelo professor Dr. Sergio Ricardo Batlouni, o qual é o atual responsável pelo Laboratório de Reprodução de Peixes no CAUNESP, e por alunos de doutorado, mestrado e de iniciação científica. O professor supervisor do presente estágio foi o Dr. Sergio Ricardo Batlouni, o qual vem trabalhando com o desenvolvimento de pesquisas na área de reprodução de peixes nativos e sua aplicação na piscicultura; biotecnologia aplicada à reprodução; biologia da reprodução, histologia, morfologia e biologia celular.

Atualmente, o laboratório pode contar com toda a infraestrutura que o CAUNESP oferece. Entretanto, a estrutura física básica do laboratório é constituída por uma parte interna e externa. Na parte interna do laboratório existem três salas, as quais são utilizadas para a reprodução. Uma das salas possui oito caixas de 750L destinada à manutenção de casais de reprodutores que foram selecionados para realização da desova (Figura 5).



Figura 5. Caixas destinadas aos reprodutores

Outra sala é destinada para as incubadoras, onde são colocados os ovos provenientes da desova dos casais. Esta sala possui um sistema contendo 12 incubadoras de 25L, além de outras duas incubadoras de 200L, as quais são utilizadas para a eclosão e alimentação inicial das larvas (Figura 6).



Figura 6. Sistema de incubadoras

Devido, ao pequeno espaço da sala destinada para as incubadoras, acaba sendo necessária a utilização de outras salas para a colocação de incubadoras, tais como a sala destinada para os reprodutores (Figura 7A) e estufa contendo aquários de alvenaria que ficam na parte externa do laboratório (Figura 7B).

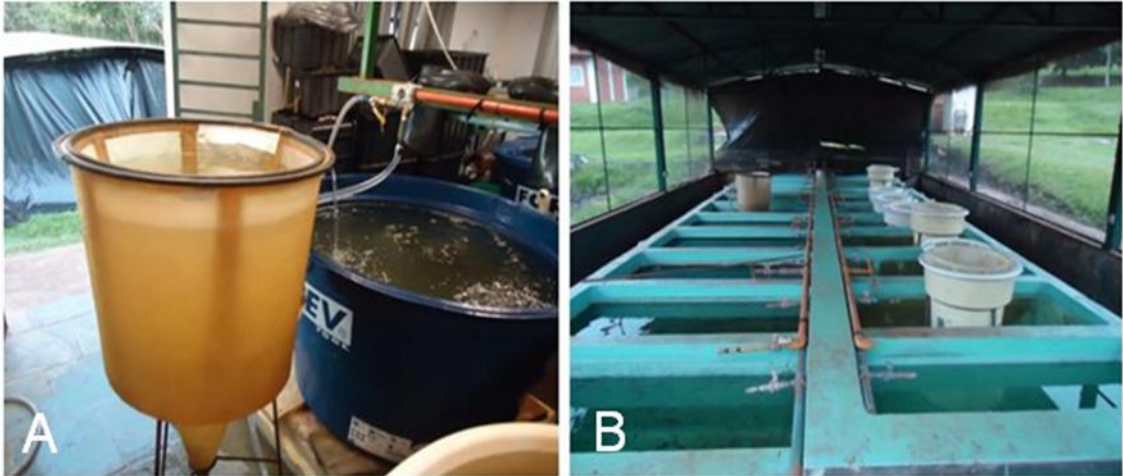


Figura 7. A) Incubadoras colocadas na sala dos reprodutores. B) Incubadoras colocadas em estufa da parte externa do laboratório.

E a terceira sala, é onde fica a balança analítica para a pesagem do hormônio, o botijão de nitrogênio para a criopreservação, os microscópicos, os estereomicroscópios com captura de imagem para análises mais detalhadas, geladeira para armazenamento de reagentes, amostras e armários para manutenção dos equipamentos e utensílios utilizados no laboratório (Figura 8).



Figura 8. Sala de pesagem e de microscopia

Na parte externa, o CAUNESP, conta com aproximadamente 60 viveiros escavados, que podem ser utilizados para crescimento dos peixes (pós-larvas e alevinos) e para manutenção dos reprodutores (Figura 9).



Figura 9. Viveiros escavados

As principais espécies estudadas no Laboratório de Reprodução são: Piau três pintas (*Leporinus friderici*), Cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Tambaqui (*Colossoma macropomum*), Curimba (*Prochilodus scrofa*), Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*), lambari-do-rabo-vermelho (*Astyanax fasciatus*) e Lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*).

A água utilizada no laboratório vem de um reservatório, sendo necessário o uso de bomba, a qual bombeia água para uma caixa de água de onde é distribuído para os laboratórios (Figura 10).



Figura 10. Reservatório de água

4. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Durante a realização do estágio foram realizadas diversas atividades, ligadas à farmacologia, fisiologia, metabolismo e reprodução animal, tais como, o acompanhamento de experimentos e participação de aulas práticas. Entretanto, a principal atividade desenvolvida durante a realização do estágio na UFLA e no CAUNESP, foi o acompanhamento do processo reprodutivo dos peixes nativos. Assim, as atividades que serão descritas neste relatório, estão ligadas a reprodução desses peixes, a qual envolve:

- Captura, seleção e transporte dos reprodutores;
- Identificação, pesagem e marcação dos reprodutores;
- Indução hormonal;
- Desova.

4.1. CAPTURA, SELEÇÃO E TRANSPORTE DOS REPRODUTORES

Para a captura dos reprodutores é utilizado rede em toda a extensão do tanque, de maneira que possibilite o mínimo de fuga dos peixes (Figura 11). O uso de malhas de rede apropriadas para a captura e manejo é de fundamental importância para que se evitem com que os peixes malhem e se machuquem.

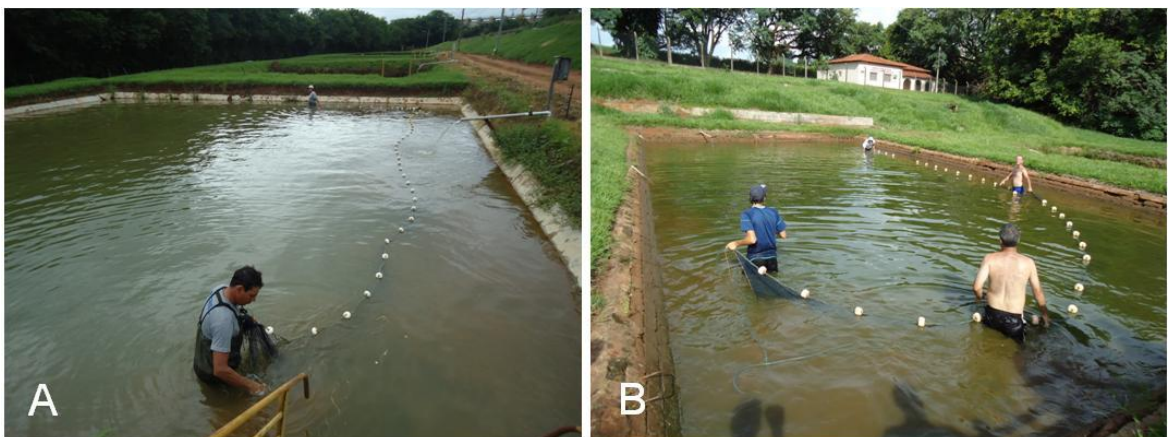


Figura 11. A) Arraste realizado na Piscicultura de Itutinga. B) Arraste realizado na CAUNESP.

Após o arraste é feita a seleção dos reprodutores. Essa seleção normalmente é realizada em horário de pouco sol e com os peixes dentro da rede

(Figura12). O peixe é mantido com o abdome para cima, pressionando essa região com o dedo indicador e polegar, no sentido da cabeça à cauda.



Figura 12. A) Seleção dos Reprodutores na piscicultura de Itutinga. B) Seleção dos Reprodutores no CAUNESP.

Os reprodutores são selecionados de acordo com as características citadas por Woynarovich e Hóvath (1989). Para as fêmeas, essas características observadas incluem abdômen bem desenvolvido e abaulado, macio ao toque, papila urogenital proeminente e de coloração rosada ou avermelhada e orifício genital proeminente e ligeiramente aberto (Figura 13). Estas características são observadas para a maioria das espécies nativas, tais como: dourado, pacu, tambaqui, matrinxã, pintado e curimba.



Figura 13. Características observadas na fêmea na hora de fazer a seleção

Em relação aos machos, a sua seleção é feita através da ocorrência de liberação de algumas gotas de sêmen sob leve massagem abdominal. Em algumas espécies o macho apresenta dimorfismo sexual evidente, como o dourado e a piracanjuba que possuem a nadadeira peitoral áspera, enquanto que no matrinxã e no lambari esta adaptação se apresenta na nadadeira anal. Outras espécies como a curimba e o piau ao ser manipulado emitem sons (roncos) característicos de sua fase reprodutiva.

Estas características, entretanto, são subjetivas, havendo a necessidade de uma avaliação mais criteriosa para que possibilite melhor indicação do estágio de maturação gonadal. Esta indicação propicia o melhor momento de aplicação hormonal, aumentando a eficiência da indução e melhorando os índices reprodutivos do plantel em cativeiro (Murgas *et al.*, 2011).

Assim, durante a seleção das matrizes, às vezes faz-se o uso da inserção de uma cânula pelo orifício genital (Figura 14) e sucção de uma pequena quantidade de ovócitos para poder avaliar apenas características macroscópicas dos ovócitos como a homogeneidade no tamanho dos ovócitos e a coloração característica da espécie. Porém, este procedimento só foi realizado no CAUNESP, uma vez que na piscicultura de Itutinga, acham este procedimento muito invasivo e assim não o realizam.



Figura 14. Introdução de cânula no orifício genital

Posteriormente, os animais selecionados são transportados para o laboratório, através de caixas plásticas com oxigenação quando a distância é muito longa (Figura 15A) ou através de sacolas de transporte individuais (Figura 15B) quando à distância de transporte é mais próxima.



Figura 15. A) Caixas plásticas com oxigenação. B) Sacola de transporte.

No laboratório do CAUNESP, os peixes são colocados em caixas d'água de polietileno (Figura 16A) e no Laboratório de Itutinga os peixes são colocados em aquários (Figura 16B).



Figura 16. Os Reprodutores são colocados em: A) Caixas Plásticas no Laboratório do CAUNESP. B) Em Aquários no Laboratório de Itutinga.

No caso do Laboratório do CAUNESP ainda são aplicados alguns métodos para a determinação da maturidade gonadal das fêmeas para indução hormonal. Segundo Bromage *et al.* (1992), a determinação da maturidade gonadal é

importante, pois indica a qualidade dos ovócitos bem como as características que propiciam uma boa capacidade de obter sucesso na fertilização.

Várias metodologias são recomendadas como indicador do grau de desenvolvimento gonadal para a seleção de fêmeas aptas à reprodução e da qualidade da desova como a análise do diâmetro médio dos ovócitos (Kuo e Nash, 1975), a distribuição de frequência dos diferentes tamanhos de ovócitos (Romagosa *et al.*, 1990) e a posição da vesícula germinal (Bruzska, 1979).

Na prática, essas técnicas são trabalhosas e, portanto, são pouco utilizadas em pisciculturas comerciais. Porém, no laboratório de reprodução da CAUNESP é realizada a análise da posição do núcleo nos ovócitos. Para isso, retira-se com o auxílio de uma cânula uma pequena quantidade de ovócitos intraovarianos. Estes ovócitos, posteriormente, são fixados utilizando o líquido de Serra (60 ml de álcool 90°GL; 30 ml de formalina e 10 ml de ácido acético glacial). Após 3 a 5 segundos, os ovócitos são classificados. Quando o núcleo dos ovócitos estiver situado na periferia da célula, estes ovócitos se apresentam no final de maturação, quando o núcleo estiver central, estes ovócitos se apresentam imaturos ou em maturação. Assim, na Figura 17, podemos visualizar vários ovócitos com posição central do núcleo. Para este ser considerado periférico, ele deve estar entre a linha tracejada e a membrana do ovócito.

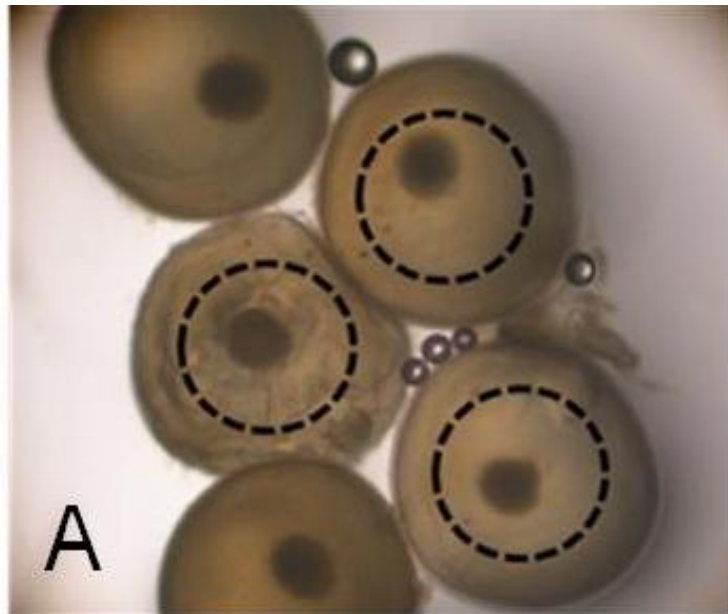


Figura 17. Posição da vesícula germinativa.

4.2. IDENTIFICAÇÃO, MARCAÇÃO E PESAGEM DOS REPRODUTORES

No laboratório do CAUNESP e de Itutinga, os peixes são identificados através da leitura do microchip (Figura 18A). Estes microchips são implantados na cavidade abdominal (Figura 18B) ou no dorso do animal após o mesmo ser insensibilizados com imersão em solução de anestésico. Tais microchips apresentam numeração internacional única que pode ser lida com a ajuda de um escâner eletrônico, apresentam pequena porcentagem de perda, são de fácil aplicação e manipulação, fornecem informações seguras e individuais.

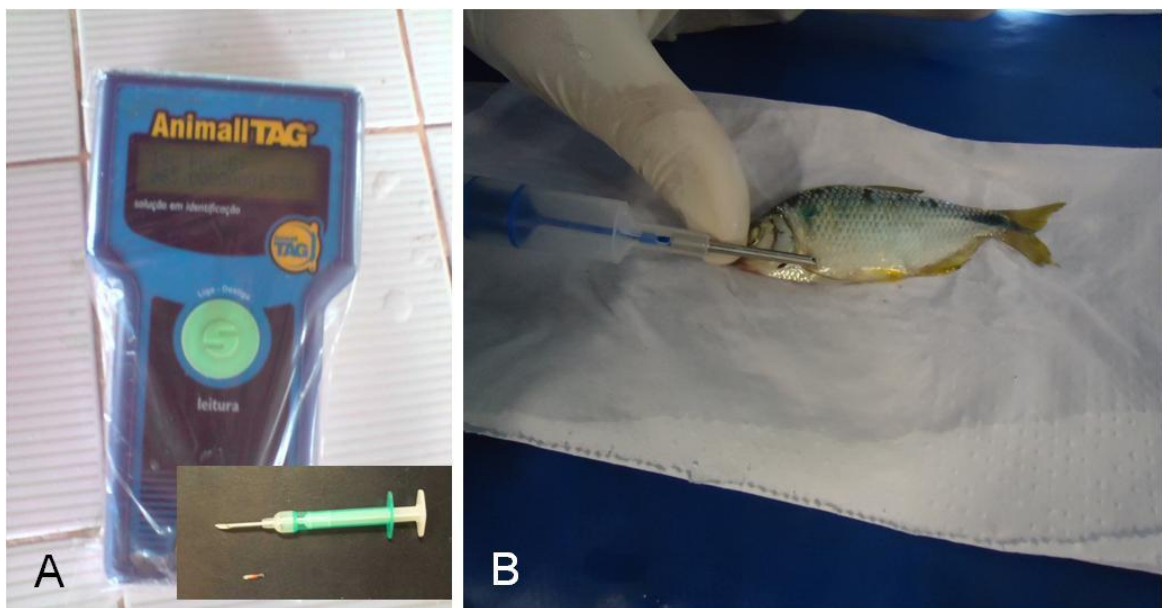


Figura 18. A) Aplicador e leitor de microchip. B) Aplicação na cavidade abdominal.

A geração de informações, por meio da identificação, permite a predição dos valores genéticos de cada animal, auxilia na determinação dos acasalamentos, diminuindo a ocorrência de acasalamentos consanguíneos, potencializando os ganhos genéticos a partir dos acasalamentos dos indivíduos superiores (Oliveira *et al.*, 2011).

Entretanto, nem todos os peixes, pertencente ao CAUNESP e a piscicultura de Itutinga possuem uma identificação, assim acaba se tornando um ponto negativo para o manejo reprodutivo desses animais.

Após a identificação ou não dos animais, eles são marcados e pesados. A marcação dos peixes na piscicultura de Itutinga e no CAUNESP é feita com fios de lã de cores diferentes, que é suturado na altura do primeiro raio da nadadeira

dorsal (Figura 19). Essa marcação é importante porque permite o reconhecimento individual de cada peixe, permitindo o acondicionamento de peixes de diferentes pesos (que receberão diferentes quantidades de hormônio) numa mesma caixa.

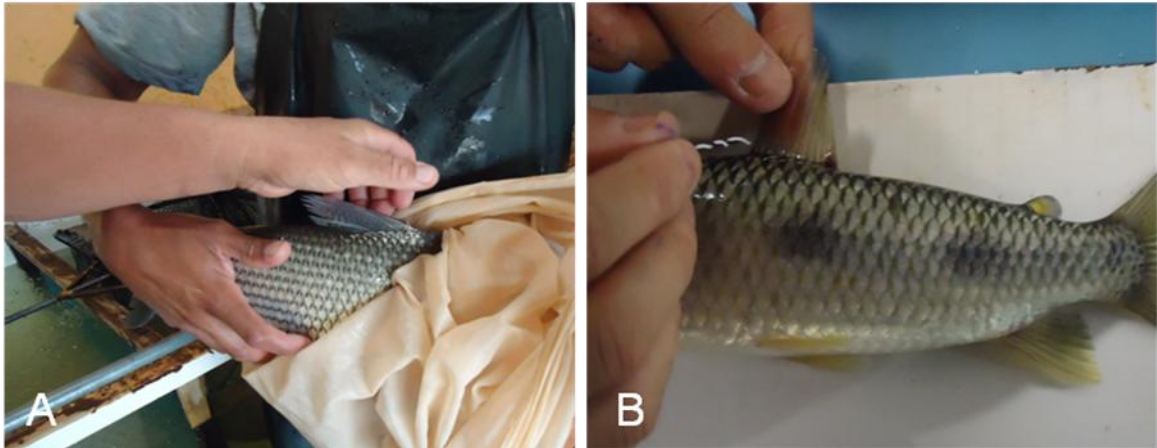


Figura 19. A) Marcação nos peixes na piscicultura de Itutinga. B) Marcação nos peixes no CAUNESP.

Após a marcação, os reprodutores são pesados para se calcular a dose de hormônio a ser aplicada (Figura 20). Para isso, o reprodutor é envolvido em uma toalha molhada, o que diminui o stress.



Figura 20. A) Pesagem dos peixes em Itutinga. B) Pesagem dos peixes no CAUNESP.

Em seguida os peixes são devolvidos para as caixas e separados por sexo, para que evitem com que eles se machuquem. Em ambos os laboratórios, a água

das caixas sempre está renovando e recebe um suplemento de oxigênio através de um compressor. No caso da piscicultura de Itutinga a água também é mantida em temperatura constante de acordo com o recomendado para a espécie, através de um aquecedor, evitando assim variação brusca de temperatura da água.

4.3. INDUÇÃO HORMONAL

Os peixes que realizam piracema, quando são retirados do seu habitat natural e confinados em sistemas de criação, acabam apresentando restrição de alguns estímulos externos como migração, profundidade ou corredeiras (Mylonas *et al.*, 2010). Estes estímulos são fundamentais, pois acabam influenciando na resposta endócrina ligada a reprodução dos peixes.

Havendo estímulos externos o hipotálamo dos peixes os processa de maneiras a fazer com que se inicie uma série de eventos fisiológicos ligados à reprodução dos peixes, por meio da liberação de hormônios liberadores de gonadotropinas (GnRH) e dopamina. O GnRH é responsável por estimular a hipófise a sintetizar e liberar hormônios gonadotrópicos (FSH e LH) (Harvey *et al.*, 1993), os quais via circulação atingem as gônadas (Harvey & Carolsfeld, 1993). O hormônio folículo estimulante (FSH) vai atuar nas gônadas de maneira a estimular a liberação de andrógenos e estrógenos os quais vão ser responsáveis pelo crescimento gonadal, pela gametogênese e pela vitelogênese. Já o hormônio luteinizante (LH) vai atuar na maturação final dos gametas e sua posterior liberação.

Porém, a síntese e liberação de GnRH no hipotálamo pode ser inibida pela ação da dopamina, e assim fazendo com que não ocorra a liberação de hormônios gonadotrópicos induzidos por este hormônio (Nocillado & Elizur, 2008). A inibição por dopamina é dependente da elevação dos níveis de estradiol, o qual é sintetizado durante a vitelogênese. Mas, com o término da vitelogênese os níveis de estradiol diminuem, retirando a inibição provocada pela dopamina (Saligautet *al.*, 1998) citada por Ptaszynska (2007).

Com o término da vitelogênese, inicia-se a “fase de dormência”, onde é caracterizada por apresentar uma baixa atividade ovariana (Zaniboni Filho & Weingartner, 2007). Nesta fase, são necessárias condições ambientais favoráveis para que se tenha início à maturação final gonadal, que é quando a vesícula

germinativa (núcleo) migra para a periferia celular, e os ovócitos se tornam prontos para serem eliminados do envelope folicular e assim acontecer à ovulação. Passado o período de dormência, se caso não ocorrer à maturação final gonadal devido à falta de condições ambientais favoráveis, dá início ao processo de atresia folicular (Vazzoler, 1996).

Assim, para que não ocorra à reabsorção celular por falta de condições ambientais propícias, faz-se a aplicação de técnicas de indução hormonal nos peixes que se encontram maduros, para que induz a migração e rompimento da vesícula germinal e posterior ovulação. No caso dos machos, a indução hormonal tem por finalidade fazer com que aumente o número de células espermáticas, proporcionando um maior volume de sêmen (Zaniboni Filho & Weingartner, 2007).

No CAUNESP e na piscicultura de Itutinga a indução hormonal é feita principalmente utilizando-se o extrato bruto de hipófise de carpa. Mas, no CAUNESP, também foi utilizado Ovopel®, análogo de LH, o qual tem apresentado custo inferior ao da hipófise de carpa, porém não demonstrou bons resultados na indução dos peixes.

Vários trabalhos têm apresentado resultados satisfatórios com a utilização do extrato bruto de hipófise para a indução a maturação final gonadal, ovulação e ou espermição no caso dos machos, para vários peixes brasileiros que apresentam características migratórias (Godinho & Godinho, 1986; Zaniboni Filho & Barbosa, 1996).

Na literatura há registro da utilização de outras substâncias como gonadotropina coriônica humana (hCG), entretanto, a aplicação de hCG em peixes se torna um processo inviável, devido haver a necessidade da aplicação de doses mais elevadas para que se obtenha resultados positivos. Tal fato se deve a grande diferença da estrutura molecular do hCG quando comparada com a gonadotropina de peixes (Harvey & Carolsfeld, 1993).

A utilização de hormônios liberadores de gonadotropinas (GnRH), também vem sendo utilizados e tem apresentado bons resultados para a indução a desova, devido apresentarem pouca diferença na sua estrutura molecular entre as espécies animais (Donaldson & Hunter, 1983). Porém, a utilização de hormônios sintéticos no Brasil, em reprodução artificial de peixes, ainda é pequena em relação ao extrato bruto de hipófise de carpa (Sallum, 2002). Apesar de possuir

um elevado custo, o EBHC tem sido o mais utilizado em espécies migratórias nas pisciculturas (Streit Jr *et al.* 2003).

4.3.1. PREPARAÇÃO DO HORMÔNIO

Para utilização da hipófise, como indutor hormonal, é realizada a pesagem da hipófise após o cálculo de peso dos reprodutores. Estas hipófises são colocadas em um pistilo (Figura 21A), e posteriormente colocam-se três gotas de glicerina, para auxiliar a maceração. A pasta formada será diluída em solução fisiológica (Figura 21B). O hormônio é homogeneizado e colocado nas seringas com as respectivas identificações com fios na mesma cor dos utilizados nos peixes.



Figura 21. A) Hipófises alocadas em um pistilo. B) Pasta formada após adicionar glicerina e solução fisiológica.

Tanto no CAUNESP e na piscicultura de Itutinga, as fêmeas recebem aplicações de duas doses de EBHC. Uma dose menor, preparatória, para maturação total, e após doze horas, aplica-se uma segunda dose final para ovulação e liberação dos ovócitos. Nesse momento, aplica-se também a primeira e única dose no macho.

Entretanto, na piscicultura de Itutinga, a dose preparatória nas fêmeas administrada é de 0,5 mg/kg PV; a segunda dose é de 5,0 mg/kg PV e a dose no macho é de 0,5 a 1,5 mg/kg PV. Já no CAUNESP são observados melhores resultados nas fêmeas, quando se administra 0,6 mg/kg PV de EBHC e de 5,5 mg/kg PV de dose inicial e final respectivamente, e nos machos, doses únicas

entre 2,0 à 2,5 mg/kg PV. As respostas dos reprodutores mediante a uma concentração de hormônio, pode ser decorrente, as variações de temperatura e ao regime de chuva apresentado em cada região, onde certamente influência significativamente o ciclo reprodutivos dos peixes (Bazzoli, 2003).

O horário aproximado da desova é baseado no acúmulo de temperatura a cada hora, o que é chamado de hora grau. O cálculo é feito a partir do somatório das temperaturas que são medidas a cada hora a partir da última aplicação de hormônio. A hora grau varia de acordo com a espécie, e temperatura da água em que estão os peixes. No caso da curimba, a hora grau é de 308, sendo assim, após a aplicação da última dosagem de hormônio, mede-se a temperatura da água onde a fêmea se encontra e divide-se à hora grau pela temperatura encontrada, ou seja: sendo a hora grau no valor de 308 e a temperatura da água supondo que esteja em 25°C, divide-se 308 por 25, obtendo-se o valor de 12,32 horas, que será a média de horas que a fêmea levará para estar pronta para a desova, após ultima aplicação hormonal.

4.3.1.1. EXEMPLO DE CÁLCULO DE HORMÔNIO

Exemplo: Hipófise de peixe

Peso do peixe em kg

Inicialmente se pesa todos os reprodutores, separadamente, para determinação do peso total dos reprodutores, para determinar a quantidade de hipófise a ser utilizada (quadro). Se a primeira dose para curimba por ex: é de 0,5 mg/ kg, então devemos multiplicar 18,5 kg x 0,5 = 9,25 mg de hipófise

| | Machos | | Fêmeas |
|--------------|---------------|---|---------------|
| | 0,5 | | 1,2 |
| | 1,2 | | 3,0 |
| | 1,8 | | 2,8 |
| | 0,8 | | 3,4 |
| | 1,3 | | 2,5 |
| TOTAL | 5,6 | + | 12,9 = 18,5 |

Peso total dos reprodutores: 18,5 kg.

Dosagem de cada peixe:

Por kg de peixe é utilizado 0,2 ml de solução fisiológica. Esta solução é comprada em farmácias, de maneira asséptica, lembrando que ela deve ser injetável. Se o peso total dos reprodutores foi de 18,5 kg, então:

$$18,5 \text{ kg de peixe} \times 0,2 \text{ ml de soro} = 3,7 \text{ ml}$$

Este é o volume total em que as hipófises pesadas e maceradas devem ser diluídas. Então 9,25 mg de hipófise devem ser maceradas em 3,7 ml de solução fisiológica. Como sempre há uma perda da solução a ser aplicada, é recomendado que se coloque sempre um volume a mais de soro fisiológica, neste caso 4 ml.

Posteriormente deve-se fazer o calculo:

1) mg de hipófise/peixe

Peso do peixe individual x 0,5 ou 5 mg (dose) = x mg de hipófise por indivíduo

2) Dose em ml

4 ml de volume total de soro fisiológico – 9,25 mg de hipófise

Se o animal deve receber x mg, então qual será o volume deve ser aplicado?

Ex: se uma fêmea pesa 1,2 kg, então

1) $1,2 \text{ kg} \times 0,5 \text{ mg (1}^\circ \text{ dose)} = 0,6 \text{ mg de hipófise}$

2) $4 \text{ ml de soro} \times 0,6 \text{ mg de hipófise} / 9,25 \text{ mg de hipófise} = \underline{0,25 \text{ ml}}$ de solução de indução. Assim 0,25 será a dose a ser aplicada na fêmea que pesa 1,2 kg, na primeira dose da indução.

Calculo do volume total de soro fisiológico para diluição da hipófise:

Quantidade de soro fisiológico para injetar nos reprodutores:

1,0 kg de peixe _____ 0,2 ml de soro fisiológico

18,5 kg de peixe _____ X \Rightarrow 3,7 ml de soro fisiológico

Como 3,7 ml é a quantidade exata necessária e, por acidente, podem-se haver perdas durante a aplicação, acrescenta-se um pouco mais (como por exemplo, 4,0 ml) de soro. Não se deve aumentar muito, pois todas as vezes que aumentar o soro será necessário aumentar a quantidade de hipófise sendo que esta custa muito caro.

Cálculo da 1ª dose efetiva:

Utilizam-se 0,5 mg de hipófise para cada 1kg de peixe.

0,2 ml de soro _____ 0,5 mg de hipófise

4,0 ml de soro _____ X \Rightarrow 10 mg de hipófise

Verificação da concentração: $10 \text{ mg} \times 0,2 \text{ ml} \div 4,0 = 0,5 \text{ mg}$

O procedimento é pesar 10 mg de hipófise, macerar e acrescentar os 4 ml de soro. Mistura-se bem e aplica-se a dosagem calculada previamente para cada peixe.

Cálculo da 2ª dose efetiva:

Utilizam-se 5,0 mg de hipófise sendo aplicada aproximadamente 12 horas após a 1ª dosagem efetiva.

0,2 ml de soro _____ 5,0 mg de hipófise

4,0 ml de soro _____ X \Rightarrow 100 mg de hipófise

Verificação da concentração: $100 \text{ mg} \times 0,2 \text{ ml} \div 4,0 = 5,0 \text{ mg}$

O procedimento é pesar 100 mg de hipófise, macerar e acrescentar 4 ml de soro. Mistura-se bem e aplica-se a dosagem individualmente calculada para cada peixe.

4.3.2. LOCAIS E FORMA DE APLICAÇÃO DO HORMÔNIO

A aplicação é realizada com o reprodutor na água ou fora dela, de acordo com a experiência da pessoa que irá realizar. Quando a aplicação é fora da água o reprodutor é enrolado em uma toalha úmida, colocado sobre uma mesa e aplicado o hormônio. A maioria dos hormônios utilizados no processo reprodutivo dos peixes é hidrossolúveis, o que facilita sua diluição em uma solução aquosa, proporcionando praticidade na aplicação.

O local de aplicação é realizado normalmente atrás da nadadeira peitoral ou intramuscular abaixo da nadadeira dorsal. Entretanto, existem outros locais de aplicação (Figura 22). Considerando-se o fato de que a segunda dose de aplicação possui um maior volume a ser administrado, a aplicação é feita em mais de um local podendo ser em ambas as nadadeiras.



Figura 22. Localização dos pontos de aplicação de hormônio, durante a indução hormonal. 1) Intramuscular: inserir a agulha na musculatura abaixo da nadadeira dorsal, 2) Intracaudal: inserir a agulha próxima à nadadeira caudal, 3) Intrabdominal: inserir a agulha abaixo da nadadeira pélvica. 4) Atrás da nadadeira peitoral existe uma região sem escamas de fácil acesso a musculatura.

A manipulação dos hormônios é realizada, utilizando-se luvas cirúrgicas, agulhas e seringas somente para este fim. E é armazenado em lugar seguro, fresco e sombreado e somente acessível às pessoas responsáveis pela sua manipulação ou no caso da CAUNESP é guardado dentro da geladeira do laboratório.

4.4. COLETA DE GAMETAS (DESOVA)

Quando a hora grau é atingida, normalmente se observa o comportamento característico das fêmeas prontas para a desova como nado em círculos e inquietação. Em seguida, a fêmea é capturada com o auxílio de puçá e é verificado se ocorre à liberação dos ovócitos através de massagem abdominal no sentido da cabeça para a cauda. Ocorrendo a eliminação dos ovócitos, a fêmea é levada para uma mesa onde é feita a secagem da papila genital com toalha limpa e seca e então realiza-se o processo de extrusão.

A extrusão é feita através de uma leve compressão sobre o abdômen da fêmea, no sentido da cabeça para cauda, de maneira contínua (Figura 23). Neste momento, coloca-se uma bacia plástica ou becker completamente seco, para a coleta da desova. Caso haja sangramento durante o processo de extrusão, suspende-se o manejo neste ponto e é feita a troca de bacia, pois o sangue dificulta a fertilização. Todo o manejo é feito com toalhas de algodão, precavendo-se de que os olhos dos animais estejam cobertos, minimizando o estresse e evitando lesões.



Figura 23. Processo de extrusão em fêmeas

Caso seja realizada a massagem, e a fêmea não liberar os ovócitos, ela é devolvida para a caixa de contenção e monitorada a cada meia hora. Após a coleta dos ovócitos, os mesmos devem ser pesados e se realiza a captura do macho imediatamente, seguindo-se os mesmos passos realizados para as fêmeas.

O sêmen é colocado diretamente sobre os ovócitos, ou coletado em uma seringa, após perceber que o sêmen não está contaminado com sangue e nem urina para que não diminua os índices de fertilização (Figura 24). Normalmente a quantidade de sêmen utilizado é feita sem nenhum padrão técnico ou determinação do volume ideal de sêmen. Porém Bock & Padovani (2000) recomendam 1 ml de sêmen para 100 g de óvulos para *Piaractus mesopotamicus*. Esta quantidade de sêmen, evita com que ocorra uma quantidade excessiva de espermatozoide querendo fecundar o mesmo ovócito, além de também evitar com que não falte espermatozoide para fecundar os ovócitos.

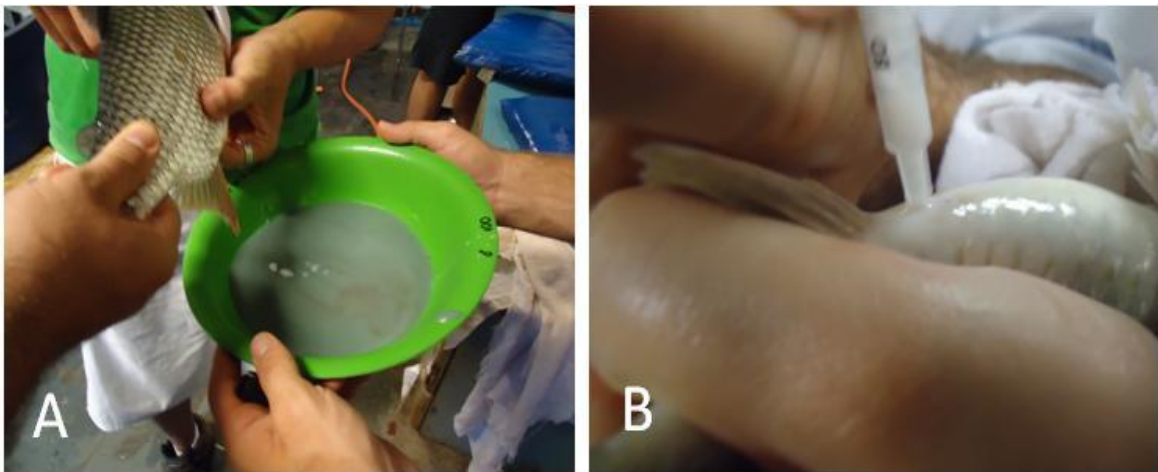


Figura 24. A) Sêmen sendo colocado diretamente nos ovócitos. B) Sêmen sendo coletado pela seringa.

Para ocorrer à fecundação é necessário que o espermatozoide entre em contato com a água para ser ativado. Entretanto, os óvulos dos peixes possuem uma abertura denominada micrópila, local por onde o espermatozoide passa para poder fecundar o óvulo. Quando em contato com a água, o óvulo hidrata e sua micrópila fecha gradativamente e em aproximadamente um minuto, já é inviável a fecundação, também porque os espermatozoides de peixes teleósteos uma vez ativados inicialmente pelo contato com a água têm tempo de vida e motilidade por

um curto período de tempo, aproximadamente menos de um minuto (Melo e Godinho, 2006). Essa duração da motilidade espermática possui grande importância para a fecundação, pois os espermatozoides precisam encontrar e penetrar a micrópila do ovócito antes desta fechar-se pela hidratação (Morales, 1986).

Assim, a fim de facilitar a união do espermatozoide com o óvulo no processo de fertilização, é utilizada uma espátula plástica em que, através de movimentos circulares a seco, os gametas são misturados. Coloca-se um pouco de água para ativar os espermatozoides e mistura-se mais um pouco a fim de facilitar a fertilização (Figura 25). A inclusão de muita água causa a diluição do sêmen, e diminui a possibilidade de encontro com a micrópila para a fertilização. Da mesma forma que a quantidade insuficiente pode causar a obstrução da micrópila pelo muco do ovário ou pelo contato de outro óvulo (Woynarovich e Horváth, 1983).



Figura 25. Ativação dos espermatozóides

Weingartner e Zaniboni Filho (2005) trabalhando com dourado (*Salminus brasiliensis*) perceberam que utilização do procedimento convencional de fertilização produz baixa taxa de fecundação, sendo recomendado um maior

volume da água de ativação (entre três a cinco vezes o volume de ovócitos) e decorridos 30 a 40 segundos do início da mistura deve ser adicionado um volume aproximado de cinco vezes o volume inicial para garantir uma elevada taxa de fecundação.

Passados alguns segundos, inicia-se o processo de lavagem dos ovos fazendo-se várias trocas da água (figura 26). Neste momento é observado aumento do diâmetro dos ovos, devido à sua hidratação e alteração de cor, passando a se apresentarem transparentes.



Figura 26. Lavagem dos ovos.

Uma vez hidratados, os ovos são distribuídos nas incubadoras, sendo as mais utilizadas as incubadoras do tipo funil, com capacidade de 200 L (Figura 27). A distribuição dos ovos nas incubadoras é feita sem nenhuma medida de quantidades de ovos por incubadoras. Entretanto, recomenda-se a transferência de 0,5 a 3,5g de ovos por litro de água (Baldisseroto & Gomes, 2010). O fluxo de água nas incubadoras se mantém constante de maneira a renovar de 10 a 15l/min.



Figura 27. Soltura dos ovos nas incubadoras

Após nove horas da desova, calcula-se a taxa de fertilização (Figura 28). Esta é feita através de amostragens em cada incubadora, onde conta-se o número de ovos não fecundados e o número de ovos bons, estimando a taxa de fertilização.



Figura 28. Taxa de Fertilização

Logo após a eclosão das larvas, é observado que elas não conseguem nadar normalmente. Isto ocorre porque muitas delas não apresentam as nadadeiras peitorais, além disso, a bexiga natatória ainda não se apresenta

inflada, daí a importância do fluxo de água nas incubadoras ser de baixo para cima, para que as larvas não permaneçam no fundo das incubadoras.

Após a eclosão, ocorre à absorção completa do saco vitelínico, desenvolvimento das nadadeiras e inflação da bexiga natatória, passando a larva a nadar horizontalmente. Nesta fase, é feita a retirada das larvas através do sifonamento da água por uma mangueira, sendo transferidas para um balde coletor (Figura 29A). Essa transferência é feita de maneira que propicie uma menor pressão na água. Essas larvas são encaminhadas para caixas de 750L onde são alimentadas com artêmia ou transferidas para viveiros de criação onde começam a receber alimento externo (Figura 29B).



Figura 29. A) Balde coletor. B) Arraçoamentos das pós-larvas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cada ano que passa a busca por alimentos mais saudáveis fazem com que a piscicultura desenvolva mais tecnologias, principalmente ligadas a reprodução, de maneira que possibilite com que haja uma oferta maior de alevinos e assim de pescado para o consumidor.

Diante disso, realizar um estágio neste setor que vem se mostrando bastante promissor, faz com que as experiências vividas durante o tempo de estágio, possam servir como ferramentas para a produção de peixes no Brasil e no mundo. Além de me deixar mais intrigado para continuar buscando novos conhecimentos que facilite a criação em cativeiro sem causar danos ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS

- BALDISSEROTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2.ed.Santa Maria: Ed. UFSM, 2010. 608p.
- BAZZOLI, N. Parâmetros reprodutivos de peixes de interesse comercial na região de Pirapora. In: Godinho HP, Godinho AL (Org.). *Águas, peixes e pescadores do São Francisco de Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas, p.291-306, 2003.
- BOCK, C.L.; PADOVANI, C.R. Considerações sobre a reprodução artificial e alevinagem de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) em viveiros. **Acta Scientiarum**, v.22, p.495-501, 2000.
- BROMAGE, N.; JONES, J.; RANDALL, C.; THURSH, M.; SPRINGATE, J. BARKER, G. Broodstock management, fecundity, egg quality and timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.100, p.66-141, 1992.
- BRUZSKA, E. The in vivo method of estimating the stages of oocyte maturation in carp (*Cyprinus carpio L.*). **Acta Hydrobiol**, v.21, p.423-433, 1979.
- DONALDSON, E.M.; HUNTER, G.M. Induced final maturation, ovulation, anspermiation. **Fish Physiology**, v.9, Pt. B, p. 351- 403, 1983.
- GODINHO, H.P.; GODINHO, A.L. Induced spawning of pacu, *Colossoma mitrei* (Berg., 1895), by hypophysation with crude carp pituitary extract. **Aquaculture**, v.55, p.69-73, 1986.
- HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. **Induced breeding in tropical fish culture**. Ottawa: IDRC, 1993. p.144.
- HARVEY, B.; CAROLSFELD, J. **Induced breeding in tropical fish culture**. Ottawa: IDRC, 1993. p.144.
- KUO, C.M.; NASH, C.E. Recent progress on the control of ovarian development and induced spawning of the grey mullet (*Mugil cephalus L.*), **Aquaculture**, v.5, p.19 – 29, 1975.
- MELO, F.C.S.A.; GODINHO H.P. A protocol for cryopreservation of spermatozoa of the fish, *Brycon orthotaenia*. **Animal Reproduction**, v. 33, p.380-385, 2006.
- MORALES, J. *Aquicultura Marina Animal*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1986.
- MURGAS, L.D.S.; FELIZARDO, O.; FERREIRA, M.R.; ANDRADE, ES.; VERAS, G.C. Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.35, p.186-191, 2011.

- MYLONAS, C.C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **Gen Comp Endocrinol**, v.165, p.516-534. 2010.
- NOCILLADO, J.N.; ELIZUR, A. Neuroendocrine regulation of puberty in fish: Insights from the grey mullet (*Mugil cephalus*) model. **Mol Reprod.**, v.75, p.355-361, 2008.
- OLIVEIRA, A.V.; PRIOLI, J.A.; PRIOLI, S.M.A.P.; PAVANELLI, C.S.; JÚLIO Jr, H.F.; PANARARI, R.S. Diversity and genetic distance in populations of *Steindachnerina* in the Upper Paraná river floodplain. **Genetica**, v.115, p.259-257, 2011.
- PTASZYNSKA, M. Reprodução de Peixes. Compêndio de Reprodução, **Intervet International** **bv**, p.327-343, 2007.
- ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, H.M. Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of the pacu, (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) = (*Colossoma mitrei* Berg, 1895), induced to spawn. **Aquaculture**, v.86, p.105-110, 1990.
- SALLUM, W.B. Reprodução artificial das principais espécies de peixes de caráter reofílico. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 56p. (Curso de Especialização em Piscicultura).
- STREIT-JR, D.P.; MORAES, G.V.; RIBEIRO, R.P.; CAÇADOR, W.C.; SAKAGUTI, E.S.; POVH, J.A.; SOUZA, E.D. Estudo comparativo da indução hormonal da espermiacção em piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) com extrato de hipófise de frango, coelho e carpa. **Acta Sci Anim Sci**, v.25, p.261-266, 2003.
- VAZZOLER, A.E.A.M. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá: EDUEM, 1996.
- WEINGARTNER, M.; ZANIBONI FILHO, E.; Baldisseroto, B.; Gomes, L.C. (Org.). **Espécies nativas para a piscicultura do Brasil**. Santa Maria: Editora UFSM, v. Único, p. 257-286, 2005.
- WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. **Propagação artificial de peixes de águas tropicais**: manual de extensão. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPQ, 1989. 225p.
- ZANIBONI - FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Revista brasileira de reprodução animal**, v.31, p. 367 – 373, 2007.
- ZANIBONI-FILHO, E.; BARBOSA, N.D.C. Priming hormone administration to induce spawning of some Brazilian migratory fish. **Rev Bras Biol**, v.56, p.655-659, 1996.